UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1951 — N° 5

"SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DU S-GAIAZULÈNE"

THÈSE

DE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Novembre 1951

PAR

Edouard STANISLAS

Membres du Jury..... MM. CAUJOLLE, *Président*; BRUSTIER, DELAS, *Assesseurs*; Mme DULUCQ-MATHOU, *Suppléant*

TOULOUSE
SOCIÉTÉ GÉNÉRALE D'IMPRESSION
1951

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549605_0003

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1951 N° 5

"SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DU S-GAIAZULÈNE"

THÈSE

DE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Novembre 1951

PAR

Edouard STANISLAS

Membres du Jury..... MM. CAUJOLLE, *Président*
BRUSTIER
DELAS } *Assesseurs*
Mme DULUCQ-MATHOU, *Suppléant*

TOULOUSE
SOCIÉTÉ GÉNÉRALE D'IMPRESSION
1951

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

Doyen	MM. LEFEBVRE
Assesseur	BRUSTIER
Doyens honoraires	GORSE, CALVET

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. RISPAL — MM. MERIEL — MM. RIBAUT
LAFFORGUE — VALLOIS — SERR.

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et de psychiatrie	MM. RISER
Clinique médicale	TAPIE-MERIEL
Clinique obstétricale	GUILHEM
Physiologie	SOULA
Clinique chirurgicale et du cancer	DUCUING
Physique biologique et médicale	BUGNARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	NANTA
Chimie et Toxicologie	BRUSTIER
Pathologie générale et médecine expérimentale	SENDRAIL
Clinique chirurgicale et gynécologique	LEFEBVRE
Anatomie	LAZORTHES
Histoire naturelle	DELAS
Clinique médicale infantile et puériculture	SOREL (R.)
Pharmacie	CAUJOLLE
Path. interne et clinique des maladies de la tuberculose	MOREL
Bactériologie, hygiène, médecine sociale	ANDRIEU
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	VIRENQUE
Clinique des maladies des voies urinaires	FABRE (P.)
Matière médicale	VINCENT
Hydrologie thérapeutique et climatologie	N...
Anatomie pathologique	FABRE (J.)
Clinique oto-rhino-laryngologique et chir. maxillo-faciale	CALVET
Clinique ophtalmologique	CALMETTES
Chimie biologique	VALDIGUIE
Médecine légale et du travail	PLANQUES
Histologie et embryologie	BROUSSY
Médecine sociale	BOUNHOURE
Thérapeutique	GADRAT
Pathologie chirurgicale	GRIMOUD
Clinique odonto-stomatologique	CADENAT
Professeur à titre personnel	BAISSET
Chimie pharmaceutique	BLANC

PROFESSEUR SANS CHAIRE

Anatomie	M. COULOUMA

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie	MM. POULHES
Histologie	BIMES
Sciences Naturelles	BOUISSET
Bactériologie	Mme ENJALBERT
Chimie Biologique	MM. POLONOVSKI
Physique Médicale	AUVERGNAT
Pharmacie	COUTURIER
Botanique	Mme Dulucq-Mathou
Chimie	M. RACINE (Ch. de f.)

AGREGES

Médecine	MM. DARNAUD, GERAUD, DARDENNE, LAPORTE, BAUDOT	Chirurgie MM. RIEUNAU, DIEULAFE, DAMBRIN (P.)
Ophtalmologie		DEODATI
Physique Médicale		MARQUES
Obstétrique		PONTONNIER
O. R. L.		CLAUX
Urologie		LHEZ

COURS COMPLEMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sage-femmes	MM. GUILHEM
Chimie biologique	DOUSTE-BLAZY
Physique pharmaceutique	AUVERGNAT
Dermatologie et syphiligraphie	BAZEX
Législation pharmaceutique	BOUISSET
Tuberculose	MOREL
Chirurgie pulmonaire	DAMBRIN (P.)
Parasitologie	BAUDOT
Cryptogamie	Mme Dulucq-Mathou
Hydrologie et Géologie	MM. ASTRE
Anatomie médico-chirurgicale	THOMAS
Pharmacodynamie médecine	BAISSET
Pharmacodynamie pharmacie	CAUJOLLE
Hygiène	LAPORTE
Urologie	LHEZ
Ophtalmologie	DEODATI
Neuro-Chirurgie	LAZORTHES
Mycologie	MORQUER
Psychiâtrie	GAYRAL
Physiologie	Laporte (Y.)
Histologie	PLANEL
Secrétaire de la Faculté	M. ARGILAS

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891.)

"SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DU S-GAIAZULÈNE"

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A LA MEMOIRE DE MA SŒUR

A MA MERE

Faible témoignage de mon profond amour et de ma reconnaissance infinie.

A MES FRERES ET SŒURS

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur F. CAUJOLLE

Professeur de Pharmacie,
Inspecteur Principal des Pharmacies,
Chevalier de la Légion d'Honneur

Vous m'avez honoré de votre confiance affectueuse et vous m'avez généreusement accordé le bénéfice de votre érudition.

C'est une bien grande satisfaction qui m'est offerte de pouvoir vous exprimer ma profonde gratitude et de vous porter le témoignage de ma reconnaissance infinie.

A MON JURY DE THESE :

Monsieur le Professeur V. BRUSTIER

Professeur de Chimie et de Toxicologie,
Inspecteur Principal des Pharmacies,
Officier de la Légion d'Honneur

Il m'est agréable de vous témoigner ma gratitude d'élève et la vive reconnaissance que m'inspire votre sollicitude à mon égard.

Monsieur le Professeur R. DELAS

Professeur d'Histoire Naturelle,
Chevalier de la Légion d'Honneur

Les années de labeur passées sous votre direction éclairée et bienveillante me laissent l'imprescriptible souvenir des disciplines scrupuleuses de vos méthodes de travail, qui resteront les exemples dont je voudrais inspirer tous mes efforts.

Puisse un proche avenir offrir à mon dévouement l'occasion de répondre à l'affectueuse sympathie dont vous m'avez entouré.

Madame Th. DULUCQ-MATHOU

Maître de Conférences d'Histoire Naturelle

En voulant bien accepter ma collaboration, vous m'avez initié aux travaux de recherche.

Puissiez-vous trouver ici le témoignage de ma sincère et respectueuse reconnaissance.

A Monsieur le Professeur P. FOURMENT

Professeur de Matière Médicale et de Pharmacologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie d'Alger
Chevalier de la Légion d'Honneur

Vous m'avez cordialement accueilli dans votre service et vous avez daigné m'accorder votre confiance généreuse.

Veuillez bien accepter l'expression de mon entière et fidèle gratitude.

A Monsieur le Professeur Claude FRANCK

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Nancy

En témoignage de reconnaissance et de sincère gratitude.

A TOUS MES MAITRES
DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

A TOUS MES CAMARADES ET AMIS
DES LABORATOIRES DE PHARMACIE
ET D'HISTOIRE NATURELLE
DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

A TOUS MES AMIS
DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE D'ALGER

A TOUS MES MAITRES ET AMIS
DE LA FACULTE DES SCIENCES DE TOULOUSE

INTRODUCTION

Parmi les substances organiques révélées par l'industrie du parfum, les azulènes constituent un groupe chimique des plus curieux et leur formation dans la plante garde encore un caractère mystérieux.

L'intérêt pharmacologique de telles substances paraît avoir été jusqu'ici négligé. Or, la structure si particulière des bicyclo (0, 3, 5) pentadécanes ne saurait être sous-estimée dans une appréciation générale des effets biologiques des corps cycliques. C'est dans l'espoir d'apporter à la connaissance pharmacodynamique des azulènes quelques données de base que le Professeur CAUJOLLE nous a inspiré le sujet de cette thèse, nous proposant de limiter notre champ d'investigations à l'étude du S-gaïazulène qui, de tous les corps azuléniques, paraît, à l'heure actuelle, pratiquement le plus accessible à l'état pur.

Avec un sentiment de profonde gratitude, nous remercions le Professeur F. CAUJOLLE du très grand honneur qu'il nous fit en nous proposant l'étude d'un corps dont l'activité physiologique devait se révéler si attachante.

Il nous est extrêmement agréable d'exprimer nos remerciements et de dire toute notre reconnaissance à M. Y. R. NAVES, Directeur scientifique des Etablissements Givaudan à Genève. Nous devons, à l'extrême obligeance de ce savant, la totalité du S-gaïazulène dont nous avons fait usage au cours de l'élaboration de ce travail.

Nous nous excusons de l'avoir si souvent sollicité, bien que nous n'ignorions ni les difficultés de fabrication, ni le prix de revient élevé du produit remarquablement pur qu'il nous confiait généreusement.

Cependant, nous avons dû regretter maintes fois que les possibilités du laboratoire de synthèse ne soient pas toujours en mesure de satisfaire les exigences de l'essai pharmacodynamique, circonstances qui ont limité malencontreusement notre expérimentation.

Enfin, avant de commencer l'exposé de nos recherches, nous tenons à remercier M. Hubert PLANEL, chef des Travaux d'Histologie, Mlle Denise MEYNIER, Assistante de Pharmacie, Mlle Georgette BERGAL, Attachée de recherches au C.N.R.S., Mlles Claude MOSCARELLA, Manon CERF et Rose SAINTE-MARIE, dont la compétence et l'amical dévouement nous ont été d'un précieux secours tout au long de ce travail.

Que MM. Pierre GAYREL, Chef de Travaux de Pharmacie, et Georges ROUX, Assistant de Pharmacie, trouvent ici l'expression de notre fidèle amitié.

PLAN

INTRODUCTION. 13

LES AZULENES

1) HISTORIQUE 19
2) STRUCTURE DU SQUELETTE AZULENIQUE. . . . 20
3) PROPRIETES PHYSIQUES DES AZULENES. . . . 26
4) PROPRIETES CHIMIQUES DES AZULENES. . . . 27
5) BIOGENESE DES AZULENES. 30
6) LE S-GAIAZULENE 34

EFFETS DU S-GAIAZULENE SUR LES VEGETAUX

I. — **RECHERCHES SUR LES SCHIZOPHYTES**

ESSAIS DE DETERMINATION DE TOXICITE VIS-A-VIS DU STAPHYLOCOQUE DORE ET DU COLIBACILLE 47

II. — **RECHERCHES SUR LES VEGETAUX SUPERIEURS.**

1. **ACTION SUR LA GERMINATION ET LE DEVELOPPEMENT DES PLANTULES DE QUELQUES PHANEROGAMES ANGIOSPERMES. INTRODUCTION** 55

1° **Etude sur quelques Monocotylédones et Dicotylédones.** 57

le Poireau, *Allium porrum* (L.)	Liliacées
l'Oignon, *Allium cepa* (L.)	Liliacées
le Ray Grass, *Lolium perenne* (L.)	Graminées
le Navet, *Brassica Napus var. esculenta* (D. C.)	Crucifères
le Colza, *Brassica Napus var. oleifera* (D. C.)	Crucifères
la Moutarde Blanche, *Sinapis alba* (L.)	Crucifères
la Luzerne, *Medicago sativa* (L.)	Papilionacées
le Lin, *Linum usitatissimum* (L.)	Linacées
la Laitue, *Lactuca sativa* (L.)	Composées

2° **Etude particulière sur le Haricot vulgaire,** *Phaseolus vulgaris* **L. (Papilionacées).**

A) Recherches préliminaires 71
B) Pénétration, localisation et mode d'action du S-gaïazulène 72
C) Absorption du S-gaïazulène par les stomates. . . . 73
D) Action du S-gaïazulène sur l'allongement des axes. 79

3° **Etude sur la racine isolée de Radis cultivé,** *Raphanus sativus* **L. (Crucifères)** 80
2. **ACTION SUR LA LENTILLE D'EAU,** *LEMNA MINOR* **(L.) (LEMNACEES)** 85
3. **CONCLUSIONS** 91

EFFETS DU S-GAIAZULENE SUR LES ANIMAUX

I. — **RECHERCHES SUR LE POISSON. TOXICITE VIS-A-VIS DE LA PERCHE JAPONAISE** *(Pomotis gibbosus* L. Centrarchidés) 97
II. — **RECHERCHES SUR LA SOURIS BLANCHE** 100
III. — **RECHERCHES SUR LE CHIEN.**
1) TECHNIQUES OPERATOIRES 104
2) RESULTATS. a) Effets des doses non mortelles 106
b) Effets des doses mortelles 117
c) Discussion 121
3) INVESTIGATIONS COMPLEMENTAIRES.
a) Localisation du S-gaïazulène 129
b) Lésions organiques 129
c) Action sur les constantes sanguines 130
4) CONCLUSIONS 131
IV. — **ETUDES PHARMACODYNAMIQUES SUR ORGANES ISOLES.**
a) **UTERUS DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS** .. 137
b) **INTESTIN DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS** 143
c) **POUMON ET TRACHEE DE COBAYE** 148
d) **MUSCLE DORSAL DE SANGSUE** 151
e) **CŒUR ISOLE DE GRENOUILLE** 123
V. — **APPLICATIONS THERAPEUTIQUES DES PREPARATIONS A BASE D'AZULENE.**
1) GENERALITES SUR LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES AZULENES 152
2) RECHERCHES PERSONNELLES.
Erythèmes cutanés :
1°) du rat 154
2°) de l'homme 157
Chémosis de l'œil de lapin 158
3) CONCLUSIONS 160
CONCLUSIONS GENERALES 161
BIBLIOGRAPHIE 167

LES AZULENES

1) **HISTORIQUE.**

2) **STRUCTURE DU SQUELETTE AZULENIQUE.**

3) **PROPRIETES PHYSIQUES DES AZULENES.**

4) **PROPRIETES CHIMIQUES DES AZULENES.**

5) **BIOGENESE DES AZULENES.**

6) **LE S-GAIAZULENE.**

1. — HISTORIQUE

Les essences végétales présentent le plus généralement une coloration très faible sinon nulle; cette coloration jaunâtre, ou verdâtre, quelquefois brun pâle, s'accusant légèrement avec le temps, fait place dans certains cas à une intense coloration bleue, quelquefois nuancée de violet ou de vert, dont l'éclat est manifeste dès l'isolement de l'essence.

Ces essences végétales bleues sont connues depuis le XIV[e] siècle et il semble bien que l'essence de camomille (**Matricaria chamomilla** L.) fut la première décrite; primitivement considérées comme d'exceptionnelles raretés, les essences bleues devaient par la suite se révéler nombreuses (il en existe sans doute plus de 300). Elles peuvent, avec un degré de coloration variable, relever d'espèces végétales les plus diverses.

La nature chimique du ou des constituants bleus devait demeurer inconnue jusqu'au XX[e] siècle, et ce n'est qu'en 1863 seulement qu'une terminologie fut établie à leur intention. Le terme de cœrulène, prévu par GLADSTONE (33), fut abandonné au profit de celui d'azulène, proposé par PIESSE et mentionné pour la première fois dans la littérature scientifique par une brève mention dans la correspondance de l'Académie des Sciences, rédigée en ces termes (85) : « M. SEPT. PIESSE adresse de Londres une note sur un produit qu'il a obtenu dans la distillation fractionnaire de l'huile essentielle de camomille, et qu'il désigne sous le nom d'azulène à cause de sa couleur franchement bleue. Il a constaté l'existence de cette essence dans plusieurs autres huiles volatiles, et ne doute pas que ce soit elle qui contribue à leur donner la teinte vert pâle qu'elles offrent quand on vient de les préparer, teinte qui s'efface bientôt par suite de la prédominance croissante du ton jaune dû à l'oxygénation des résines. »

Pour que l'étude de la structure des azulènes puisse être abordée avec fruit, il fallait que nos connaissances sur les terpènes soient elles-mêmes plus avancées. Aussi bien les pre-

mières recherches sur l'isolement à l'état pur et la nature intime des azulènes ne remontent qu'à 1853. Elles se poursuivent sans résultat décisif, mais avec beaucoup d'attention de 1915 [SHERNDAL (95)] à 1926 [RUZICKA et Collaborateurs (91)], [HERZENBERG et RUHEMANN (39)]. Elles triomphent avec PLATTNER et PFAU (64), qui décrivent la structure fondamentale des azulènes naturels en 1936 et ouvrent la voie vers la synthèse d'azulènes nouveaux, non rencontrés dans la nature.

Ainsi une classe nouvelle de corps chimiques s'amplifie peu à peu; sur le modèle naturel dont le secret est découvert, les chimistes élaborent tout un ensemble de substances dont la signification biologique et les propriétés pharmacodynamiques se dévoilent à peine. Certes, les théories de la chimie organique permettaient de prévoir l'existence des azulènes et n'ont eu aucune difficulté à intégrer dans l'ensemble de nos connaissances chimiques la structure si particulière que les travaux de PLATTNER et PFAU mettaient en lumière. Mais il n'en reste pas moins remarquable sur un plan purement philosophique, de considérer combien la chimie organique demeure fille des sciences naturelles, et combien elle peut ranimer son génie et sa fécondité aux sources des modèles que lui offre la vie.

2. — STRUCTURE DU SQUELETTE AZULENIQUE

1° TRAVAUX D'ORIENTATION

Pour bien définir les données du problème posé par la recherche de la structure des azulènes, il convient de le considérer dans l'ensemble qu'il offrait à la fin du siècle dernier.

A côté du ou des corps bleus présents dans les essences, on connaissait l'existence dans la nature de corps dits azulénogènes qui, par déshydrogénation, conduisent à des substances bleues identiques ou analogues aux corps bleus se

manifestant à l'examen direct des essences. La filiation des azulènes et des azulénogènes paraissait évidente. Or, les azulènes naturels ou les azulènes dérivés des azulénogènes, alors connus, répondaient tous à la formule brute $C_{15}H_{18}$, ils possédaient donc la même richesse carbonée que les sesquiterpènes.

Cette remarque, rapprochée par ailleurs de l'origine naturelle des azulènes, donnait à penser que leur nature terpénique était probable. Et ce furent surtout des spécialistes de la chimie des terpènes qui s'attachèrent avec fruit à l'étude des azulènes. L'application aux azulènes des méthodes classiques de dégradation des sesquiterpènes paraissait devoir conduire à des résultats positifs : l'espoir de simplifier la molécule azulénique en la tronçonnant, puis de procéder à l'identification des tronçons, se heurta à des difficultés expérimentales considérables et ne permit aucune hypothèse valable sur la structure des édifices moléculaires de départ. Ainsi l'oxydation et l'ozonisation donnent un ensemble de cétones et de multiples acides : acide oxalique, acide acétique, acide isobutyrique, acide fumarique, qui ne révèlent rien de leur origine, — encore la présence de certains de ces constituants, dans les produits de destruction oxydative des azulènes, donne-t-elle lieu à discussion.

L'hydrogénation des « corps bleus » conduisit à des hydrocarbures saturés dont la structure ne put davantage être élucidée.

Ces travaux initiaux de SHERNDAL (95) et de AUGSPURGER (9) n'en conservent pas moins le mérite d'avoir reconnu aux azulènes un caractère cyclique, non saturé, d'allure parfois terpénique, parfois aromatique et d'avoir inspiré des formules tricycliques qui pour n'être point exactes, laissaient déjà pressentir une grande originalité structurale.

2°) TRAVAUX DE RUZICKA

Ayant judicieusement observé que l'étude des produits d'oxydation ou d'ozonolyse des azulènes, avant ou après réduction, est pratiquement sans issue, RUZICKA et ses élèves abordèrent directement l'étude d'un azulénogène, l'alcool kessylique, qui par déshydrogénation catalytique conduit au

S-gaïazulène. Mais aucune des formules qu'ils proposèrent ne purent être retenues.

RUZICKA et HAAGEN-SMIT (90a) relièrent par contre l'élémazulène à l'élémol; en effet, par déshydrogénation au sélénium, l'élémol donne de l'élémazulène. Le rendement de la réaction est très faible. Néanmoins RUZICKA et ses collaborateurs proposèrent un schéma structure de type (0, 3, 4) pour l'élémazulène, hypothèse fragile, car l'élémol est lui-même mal connu.

Elémol (*) Elémazulène

Ce schéma de type (0, 3, 4) fut repris par BIRRELL, en faveur du S-gaïazulène, à la suite de recherches sur l'ozonisation du hexahydrogaïazulène.

Peu après, TREIBS proposait une structure bicyclique de type eudesmolique pour un azulène dérivé d'un gurjunène. Cette structure (0, 4, 4) ne répond sûrement pas à la vérité, puisqu'en aucun cas les précurseurs du ou des gurjun-azulènes ne conduisent par déshydrogénation à l'eudalène.

Tous les efforts des auteurs de rattacher le squelette azulénique à des cycles (0, 4, 4) ou (0, 3, 4) ne parviennent donc pas à une solution satisfaisante. Le bilan de ces efforts est cependant loin d'être négatif. Sur un plan chimique, l'identification des nombreux azulènes retirés des essences s'accomplit peu à peu, les produits sont préparés à l'état pur, des azulènes décrits comme entités chimiques différentes sont confrontés et s'avèrent identiques : la terminologie se décante. Sur un plan physico-chimique, grâce surtout à RUZICKA

(*) Formule indiquée par Pfau et Plattner in *Helv. Chim. Acta*, vol. 19, p. 858, 1936.

et RUDOLPH, de nombreuses déterminations spectrales sont réalisées, et les hydrocarbures colorés déjà connus (fulvènes, goudrons de cuprène, goudrons d'adipate de calcium) sont minutieusement comparés aux azulènes, mais sans résultat décisif. RUZICKA et RUDOLPH résument ainsi, en 1926, les résultats suggérés par les recherches réalisées, résultats qui ne confirment nullement le choix de la structure (0, 3, 5) adoptée : « ... la couleur des azulènes est due à un mode de groupement jusqu'à maintenant inconnu de cinq doubles liaisons carbonées (sans cycle aromatique), dans un squelette carboné bicyclique qui est assez voisin avec certaines combinaisons sesquiterpéniques (sinon identique). Le système cyclique en lui-même n'a rien à voir avec la couleur, il offre seulement, par sa structure particulière, une possibilité avantageuse pour la position caractéristique des cinq doubles liaisons. » (91).

Telles étaient les conceptions admises lorsque PFAU et PLATTNER apportèrent leur contribution décisive à l'étude des structures azuléniques.

3°) TRAVAUX DE PFAU ET DE PLATTNER

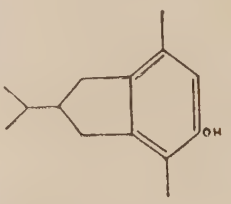
Un remarquable exposé de Y.R. NAVES (61) a mis en lumière, dès 1941, l'importance des dérivés des hydroazulènes dans la chimie des substances odorantes. Cet exposé montre la place dévolue à l'industrie des parfums synthétiques dans l'orientation des recherches de PFAU et PLATTNER, qui visaient essentiellement la synthèse des vétivones.

Toutes les hypothèses émises par les chercheurs, qui précédèrent PFAU et ses collaborateurs, rattachaient les azulènes à une structure à squelette bicyclique soit symétrique (0, 4, 4) soit dissymétrique (0, 3, 4), représentative soit d'un cyclodécapolyène, soit d'un cyclononopolyène; l'originalité des conceptions de PFAU est d'avoir envisagé un squelette bicyclique d'un type très loin d'être exceptionnel, mais son accolement à un noyau cyclopentanodiènique n'avait jamais été pressenti.

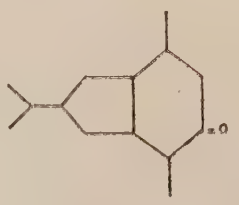
NAVES (loc. cit.) résume ainsi la découverte fondamentale de PFAU et PLATTNER : « Ils ont fait la constatation cruciale que le diacide, obtenu par l'oxydation du tétrahydro-

vétivol, peut être cyclisé en une apocétone dont la déshydrogénation conduit à un indanol phénolique; ces réactions établissent que la β-vétivone renferme un cycle pentanique et un cycle heptanique. La formation simultanée, par déshydrogénation, d'un eudalol et de vétivazulène (isomérisable en un carbure naphtalénique, le vétivazulène) a établi que les cycles sont liés en ortho et rendu l'enchaînement isoprénique hautement vraisemblable ».

L'indanol phénolique obtenu est le diméthyl-4-7-isopropyl-2-indanol-5, qui a été reproduit par synthèse :



Il résulte dans la dégradation de PFAU et PLATTNER de la déshydrogénation de l'apocétone :

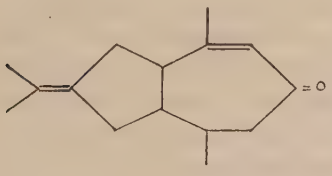


elle-même obtenue par cyclisation du dioïque de richesse carbonée immédiatement supérieure (ce qui postule le cycle C_7) :

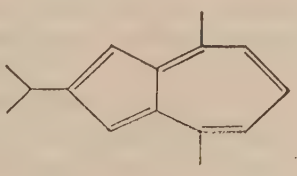
Ce dioïque provenait de l'oxydation chromique de la vétivanone, elle-même préparée à partir des deux vétivanols, qui résultent de l'hydrogénation complète sur le platine soit de la β vétivone, soit de ses dérivés partiellement hydrés : la dihydrovétivone et le dihydrovétivol.

Le point de départ de PFAU et PLATTNER fut l'essence de **Andropogon muricatus** (RETZ), qui renferme des carbures, des alcools (vétivénols), un ester (vétivénate de vétivényle), et enfin des cétones : la vétivone α et la vétivone β, dont le mélange fut désigné par PFAU et PLATTNER sous le nom d'isovétivone; NAVES et PEROTTET devaient démontrer que l'α vétivone est un stéréoisomère de la β vétivone.

Le fait important découle d'observations déjà anciennes établissant le passage facile de la β vétivone au vétivazulène. Une simple déshydrogénation au sélénium détermine une transformation notable de la β vétivone en vétivazulène; comme la réduction sélénique ne détermine généralement pas de transformation des noyaux, il peut être admis que la structure du vétivazulène est identique à celle de la β (ou de l'α) vétivones, d'où pour le vétivazulène la structure :



Vétivones

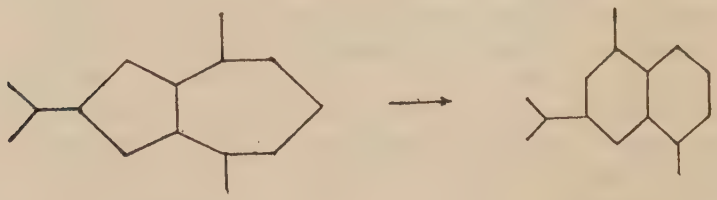


Vétivazulène

Une remarque s'impose dès l'abord, qui satisfait pleinement aux conditions théoriquement prévisibles : non seulement le schéma (0, 3, 5) de PFAU et PLATTNER répond à toutes les exigences des épreuves physiques et de l'analyse chimique, mais il confère à la molécule un caractère absolument polyénique, qui traduit une origine isoprénique. Cette origine, par le relai du farnésol, rattache bien les azulènes aux terpènes, ou plus exactement confère aux terpènes (à noyau fondamental de type cyclohexanique) et aux azulènes un ancêtre commun, l'isoprène.

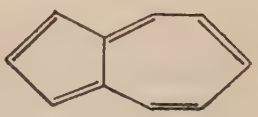
Le mérite de PFAU et PLATTNER est considérable d'avoir mené à bonne fin l'étude structurale des azulènes. Des circonstances expérimentales compliquent singulièrement la recherche : en la matière, le facile passage du type azulénique au type naphtalénique, plus stable, entraînait des isomérisations pouvant à tout instant compliquer les problèmes analytiques posés. Ainsi, lors de la réduction au sélénium des vétivones, le vétivazulène produit se transforme en notable partie en son

isomètre naphtalénique, le 1-5-diméthyl-7-isopropylnaphtalène, ou vétivalène, par un mécanisme de migration intramoléculaire, qui n'est pas sans parenté avec la transposition rétropinacolique.



Vétivazulène — Vétivalène

Dès que la structure du vétivazulène fut élucidée, par enchaînement, la structure de tous les azulènes, de proche en proche, put être établie; et en particulier celle du S-gaïazulène sur laquelle nous aurons à nous étendre plus longuement. Enfin, l'azulène fondamental fut isolé par déshydrogénation et déshydratation du cyclopenténocycloheptanol, provenant lui-même de la réduction de la cyclopentènocycloheptanone de HÜCKEL et SCHMITZSPAHN (43).



Azulène fondamental

Par synthèse, les divers azulènes naturels, et de nombreux azulènes non encore rencontrés dans la nature, ont pu être obtenus et leurs dérivés immédiats ont pu être préparés; ces synthèses ont entièrement confirmé l'œuvre princeps de PFAU et PLATTNER.

3. — PROPRIETES PHYSIQUES DES AZULENES

Les azulènes sont odorants, l'odeur est discrète et rappelle à la fois le naphtalène et la térébenthine.

Comme l'ensemble des constituants des essences végétales,

les azulènes sont volatils, entraînables à la vapeur d'eau, liposolubles et à peu près complètement insolubles dans l'eau.

La couleur constitue un élément des plus typiques; l'azulène fondamental forme des paillettes bleu foncé (P. F. 99°), ses dérivés alcoylés sont de nuances variant du bleu-vert au violet-rouge. Le décalage du bleu pur vers le vert ou le rouge dépend de la position du substituant beaucoup plus que de sa nature chimique, du moins si le substituant est aliphatique: méthyl, éthyl, isopropyl. Ces règles sont étayées sur un très grand nombre de mesures, fruit du labeur de PFAU, de PLATTNER, de WAGNER-JAUREGG et de leurs collaborateurs; elles ont pu servir de base à une classification sommaire des azulènes.

Les substitutions en 1 ou 5 déplacent la couleur vers les grandes longueurs d'onde, les substitutions en 2, 4 ou 6 vers les courtes longueurs d'onde; les bisubstitués en 1 et 5 sont bleu, en 4 et 6 violet. Ainsi le vétivazulène est violet tandis que le gaïazulène est bleu.

L'étude des spectres d'absorption des azulènes a été très largement poussée, en particulier par RUZICKA, PFAU, PLATTNER, SUSZ, NAVES, etc. De très belles recherches sur la structure cristalline ont été poursuivies également par l'Ecole de Zürich, récemment par GUNTHARD (35). [Cf. bibliographie dans l'article général de POMMER (84)].

4. — PROPRIETES CHIMIQUES DES AZULENES

1°) CARACTERE POLYENIQUE

Le caractère dominant du squelette azulénique (0, 3, 5) est sa nature absolument polyénique, cas demeuré singulier, mais dont il serait théoriquement possible « de retrouver l'analogue, en deça des bicyclo (0, 4, 4) décanes, chez les dérivés du bicyclo (0, 3, 3) octane » (NAVES). BARRETT et LINSTEAD (12) ont toutefois établi que les dérivés du bicyclooctane ne se laissent pas déshydrogéner dans les conditions où les déri-

vés du bicyclo (0, 3, 5) décane permettent d'atteindre des mélanges d'azulènes et de naphtalènes substitués isomères.

Le second caractère fondamental du type azulénique est son allure « presque aromatique », correspondant cependant à une stabilité moindre, surtout à chaud, qui permet le passage facile des azulènes aux naphtalènes substitués isomères. Mais cette « allure » aromatique ne doit pas faire méconnaître le caractère dissymétrique de l'azulène fondamental, qui oppose type azulénique et type aromatique. Ces notions fondamentales ont été très clairement résumées par Y. R. NAVES (61) en ces termes : « L'azulène se laisse construire sur un plan, comme le naphtalène, mais il est tendu par rapport à celui-ci, si l'on s'en rapporte à la théorie du carbone tétraédrique, aux données thermochimiques et au sens des isomérisations. En effet, de la comparaison des chaleurs de combustion il résulte qu'en passant du noyau naphtalénique au noyau azulénique, l'énergie de liaison diminue de près de 8 %, et cette différence de stabilité est encore confirmée par la construction des modèles tétraédriques. Ni l'azulène, ni le vétivazulène ne présentent d'axe de symétrie en raison de la longueur différente des chaînons C—C et C=C. On doit présumer qu'ils sont polaires. »

2°) STABILITE. COMBINAISONS DERIVEES

Les azulènes sont, à froid, résistants à l'action des alcalis et des acides même concentrés.

Le permanganate de potassium, dès la température ordinaire, les oxyde en produisant du CO_2 et des acides gras; cette oxydation ne produit ni acétone, ni acide phtalique.

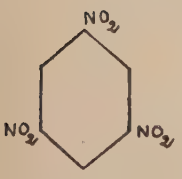
Tous les azulènes se laissent aisément hydrogéner; cette hydrogénation détruit leur caractère polyénique fondamental : les dérivés hydrés des azulènes sont incolores et sont faciles à déshydrogéner par le soufre ou le sélénium.

La bromuration est lente, ce qui traduit bien le caractère pseudo-aromatique.

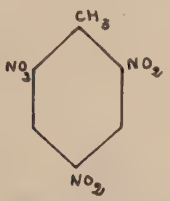
Avec les acides sulfurique, orthophosphorique et ferrocyanhydrique, les azulènes donnent des produits d'addition stables à froid, insolubles dans l'éther de pétrole; ils donnent des combinaisons avec divers dérivés aromatiques (benzène,

toluène, phénol, résorcine) à substituants nitrés : trinitrobenzène, trinitrotoluène, acide picrique, acide styphnique, formant ainsi les trinitrobenzènates, les trotylates, les picrates, les styphnates azuléniques si précieux dans les opérations d'isolement et de purification des mélanges azuléniques naturels ou synthétiques.

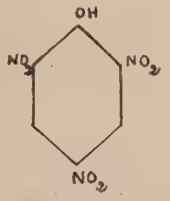
Réactifs et désignation (*) des dérivés correspondants



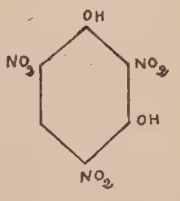
Trinitrobenzène
Trinitrobenzénates



Trinitroluène
Trotylates



Ac. picrique
Picrates



Ac. styphnique
Styphnates

Les chaînes alcoylant l'azulène fondamental peuvent servir de support à des fonctions diverses. Ainsi, on a identifié des aldéhydes azuléniques, des acides azuléniques, dont on a fait les sels, les esters, etc.

La série azulénique a pris dans la chimie une place particulière, distincte de la série aromatique, distincte de la série cyclanique, ayant son individualité propre, et conservant au sein de cette individualité toutes les possibilités infinies que portent en elles les fécondes méthodes de la synthèse organique.

3°) REACTIONS ANALYTIQUES

Les études spectrales conservent dans l'identification des azulènes une importance considérable; mais, pour les besoins des contrôles usuels, les points de fusion des combinaisons d'addition avec les dérivés aromatiques nitrés, trinitrobenzénates et trotylates surtout, conservent une grande valeur.

(*) Cette désignation ne répond pas à l'existence de dérivés salins, bien que l'usage en ait prévalu, mais de combinaisons d'addition dont la nature n'est pas encore définitivement élucidée.

La réaction au brome chloroformique de S. et H. SABETAY (93) est une indication utile pour la recherche des azulénogènes, mais elle est loin de pouvoir être considérée comme sûre et spécifique; cette réaction est une variante de la réaction au brome acétique de BAKER et SMITH (11), qui présente les mêmes incertitudes.

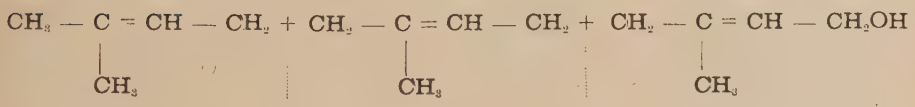
5. — BIOGENESE DES AZULENES

Si le double cycle azulénique présente une individualité chimique indéniable, le seul fait qu'il apparaisse dans la synthèse végétale, toujours aux côtés d'éléments terpéniques, implique une corrélation certaine entre la biogénèse des terpènes et celle des azulènes. Faut-il voir dans l'azulénisation un mode de cyclisation normal, ou bien un épiphénomène qui surgit en parasite à la faveur d'une étape incertaine du chimisme terpénique ? Nul ne saurait encore l'avancer, dès l'instant que les buts de la création des terpènes par le végétal sont eux-mêmes complètement inconnus. Mais, si une telle spéculation finaliste peut paraître vaine en l'état actuel de nos connaissances, la filiation qui permet aux matériaux élémentaires de s'organiser en édifices azuléniques, par contre, mérite d'être recherchée.

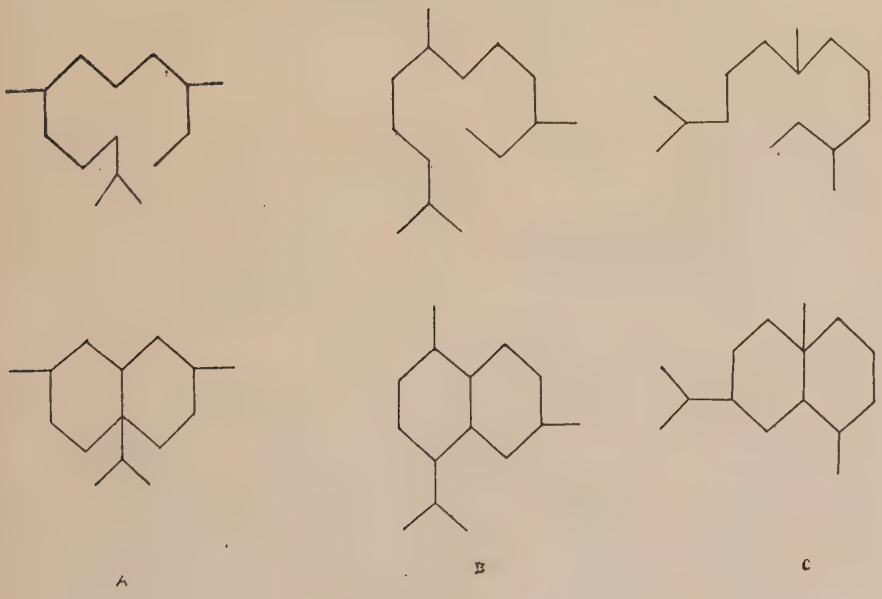
Après WALLACH en 1897 (107), ASCHAN en 1922 a émis l'hypothèse qu'un produit d'aldolisation de l'éthanol et de l'acétone, l'isoprène, constituait la substance primitive d'où dérivent les édifices terpéniques. A côté de la condensation de 2 molécules d'isoprène en dipentène (cycle hexagonal), existent des types d'enchaînement sans cyclisation, aux dépens de 2 ou de 3 molécules d'isoprène, conduisant à des chaînes aliphatiques longues. RUZICKA a montré tout ce qu'une telle conception pouvait avoir de précieux pour expliquer, dans la chimie terpénique, les types structuraux les plus divers. La fréquence des enchaînements isopréniques est maintenant établie avec une certitude telle que les cas d'exception (fenchone, artemisiacétone, caryophyllène) sont considérés

comme des sortes de monstruosités biochimiques. Ces arguments ont une valeur décisive, si bien que le rattachement des azulènes naturels principaux (qui sont des diméthylisopropylazulènes) aux chaînes isoprèniques fut activement recherché.

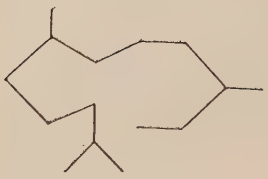
La chaîne triisoprénique du farnésol peut ainsi conduire à trois types bicyclodécaniques d'ordre (0, 4, 4) et neuf types bicyclodécaniques d'ordre (0, 3, 5). Aux types (0, 4, 4) correspondent les schémas A, B, C.

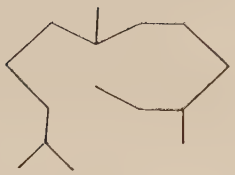


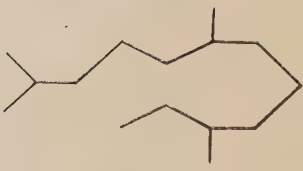
Farnésol

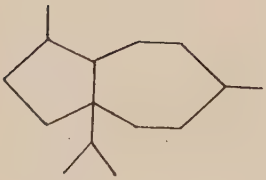


A B C

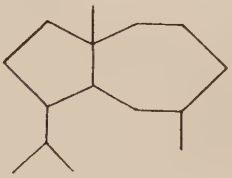




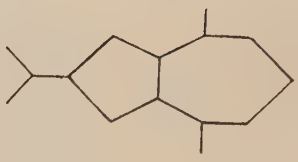




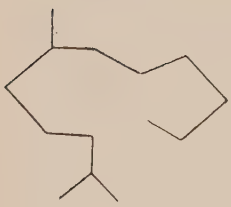
D

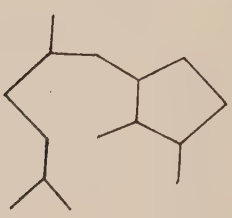


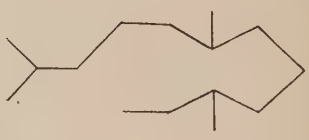
E

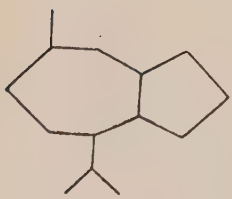


F

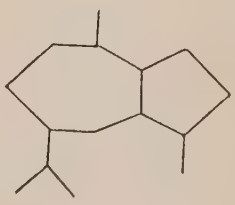




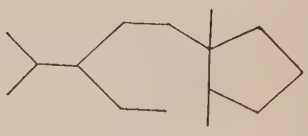




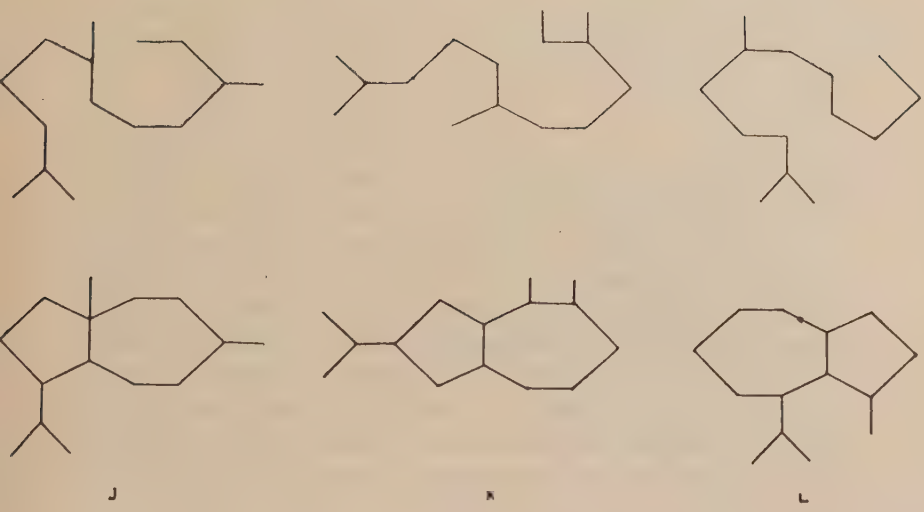
G



H

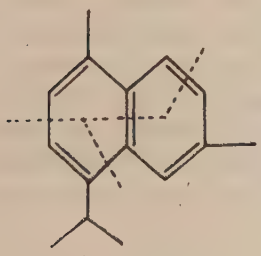


I

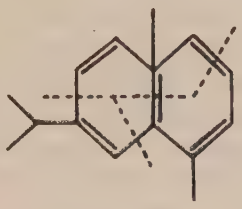


J K L

Si le type A, déjà prévu par WALLACH, n'a jamais été isolé dans la nature, les types B et C ont été identifiés dans les séries du cadinène (dont le bisabolène est un précurseur) et de l'eudalène.



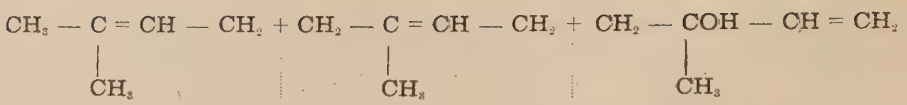
Cadinène



Eudalène

Les types (0, 3, 5) théoriquement possibles ne se rencontrent pas tous dans la nature; le type F correspond indiscutablement au vétivazulène, tandis que le type H correspond au gaïazulène.

Les mêmes considérations peuvent s'appliquer au nérolidol. isomère du farnésol :



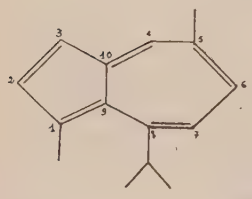
qui lui aussi par deux cyclisations successives peut conduire aux cyclodécanes des types (0, 4, 4) et (0, 3, 5) déjà indiqués.

Ces données sur l'enchaînement isoprénique ont l'intérêt de prévoir les types azuléniques fondamentaux susceptibles d'apparaître comme fruits de la synthèse végétale. Elles situent réciproquement les possibilités exclusives de la synthèse azulénique; elles montrent combien ces azulènes, édifices d'apparence singulière, s'intègrent en définitive dans le cadre d'un déterminisme bien connu. Ainsi, dans tous les cas où il peut être dévoilé, le chimisme végétal paraît merveilleusement simple et non moins ingénieux dans son unité.

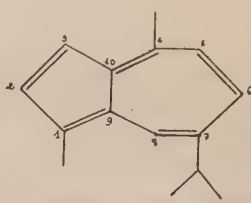
6. — LE S-GAIAZULENE

1) STRUCTURE CHIMIQUE

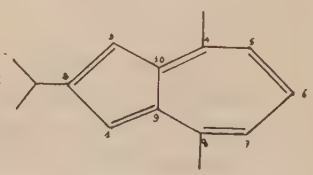
Le S-gaïazulène est un diméthyl 1,4-isopropyl-7-azulène dont le type structural relève de la cyclisation biochimique du farnésol suivant le schéma 1. Sa structure a été définitivement établie par PLATTNER et LEMAY (76) en 1940. Il ne possède aucune substitution en 2 et 6; ses propriétés spectrales le situent dans le groupe 1 de la classification de PLATTNER; il se trouve donc très voisin du chamazulène et distinct du vétivazulène.



Chamazulène



S-gaïazulène



Vétivazulène

Divers auteurs ont admis l'identité du S-gaïazulène et du Se-gaïazulène; en fait, ces deux azulènes, bien que très voisins, doivent être tenus pour distincts car NAVES a pu montrer que le trotylate de S-gaïazulène a un point de fusion (88°5-89°) nettement distinct de celui du trotylate de Se-gaïazulène (79°).

Il semble que le S-gaïazulène soit relativement très répandu dans le règne végétal; la découverte, en des laboratoires différents, à partir de drogues différentes, en des périodes où la structure azulénique était inconnue, d'azulènes nombreux ne permit pas toujours des identifications certaines. Il paraît très probable que le S-gaïazulène est identique aux azulènes décrits sous les termes de : kessazulène (TREIBS), eucazulène, gurjunazulène, etc.

2) DIFFUSION DANS LA NATURE

Sans qu'il soit possible d'affirmer que le S-gaïazulène est de tous les azulènes le plus répandu dans la nature, il est hors de doute que sa fréquence est grande; les proportions de S-gaïazulène préformé dans les essences végétales sont toujours infimes; même dans les essences les plus riches, le S-gaïazulène existe surtout sous forme de ses azulénogènes, qui, à la rectification, se concentrent avec le S-gaïazulène préformé dans les portions sesquiterpéniques.

On a décrit la présence du S-gaïazulène ou de ses précurseurs dans des espèces appartenant à plus de seize familles différentes, dont quelques-unes indigènes en France. En particulier on trouve le S-gaïazulène ou les azulénogènes correspondants dans :

Pinus strobus (L.)	Abiétacées
Pinus monticola (Douglas)	Abiétacées
Andropogon muricatus (Retz.)	Graminées
Alpinia japonica (Mid.)	Scitaminées
Drimys colorata (Raoul)	Dipterocarpées
Dipterocarpus alatus (Roxb.)	Geraniacées
Geranium macrorrhizum (L.)	Zygophyllacées
Bulnesia sarmenti (Lor.)	Zygophyllacées
Gajacum sanctum (L.)	Magnoliacées

Skimmia laureola (Sieb. et Zucc.)	Rutacées
Commiphora abyssinica (Berg.)	Burseracées
Eucalyptus globulus (L.)	Myrtacées
Rosa Damascena (Mill.)	Rosacées
Valeriana officinalis var. *angustifolia* (Miq.)	Valérianacées

3) PREPARATION A PARTIR DES PRODUITS NATURELS

Les matières premières sesquiterpéniques dont le S-gaïazulène est extractible sont relativement nombreuses.

RUZICKA et RUDOLPH ont indiqué, en 1926, une technique de préparation du S-gaïazulène à partir de l'essence dite de bois de Gaïac (ou guajak). Cette essence n'est pas retirée du **Gaïacum officinale** (L.), mais de **Bulnesia sarmenti** (Lour.) et **Gaïacum sanctum** (L.) de l'Amérique du Sud; elle est riche en gaïol, qui, après déshydratation à l'acide formique en gaïène, est déshydrogéné à 180° par traitement à la fleur de soufre. Au fur et à mesure que se dégage abondamment SH_2, la masse bleuit; on reprend à l'éther de pétrole, lave à NaoH 10 %, porte grogressivement à 240° et on entraîne à la vapeur d'eau. On purifie par les acides phosphorique ou arsenique et le picrate. Rendement : 20 % sur le gaïène, 12 % sur le gaïol (91).

En 1936, PLATTNER et PFAU ont publié une méthode de préparation du S-gaïazulène à partir de l'essence d'**Eucalyptus globulus** (L.). Par fractionnements, cette essence donne 30 % d'un mélange sesquiterpénique, qui a été déshydrogéné sur le soufre avec un rendement de 3,6 % (78).

Les mêmes auteurs ont indiqué la préparation du S-gaïazulène à partir de l'essence de géranium de la Réunion, dont la fraction sesquiterpénique donne, par déshydrogénation au soufre, le S-gaïazulène avec un rendement de 13,3 %. Les rendements sont moins bons (2,5 %) à partir des portions sesquiterpéniques de l'essence de Zdravets donnée par **Geranium macrorrhizum** (L.), plus mauvais encore (0,43) à partir des résidus sesquiterpéniques de l'essence de Patchouli, donnée par **Pogestemon patchouly** (Pell.).

En 1936, également PLATTNER et PFAU ont préparé le S-gaïazulène à partir de l'essence de baume de Gurjun, ou essence de baume de Copahu des Indes orientales, provenant de

divers **Dipterocarpus**. L'α-gurjunène, constituant majeur de cette essence, peut être déshydrogéné en phase vapeur, sur du nickel réduit, à 330-360°, suivant la méthode catalytique de SABATIER et SENDERENS (le guaïène donne le même résultat); mais les rendements sont faibles. L'α-gurjunène est, par contre, transformé en S-gaïazulène avec un rendement de 16,2 %, par le soufre. En 1937, SUSZ, PFAU et PLATTNER (65), en vue de recherches spectrographiques, ont préparé par la même voie un S-gaïazulène très pur, après purification par le picrate et chromatographie sur alumine.

4) SYNTHESES

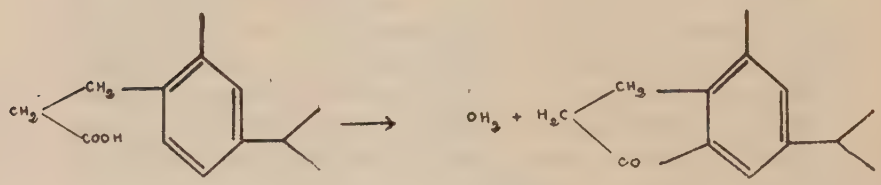
L'intérêt des synthèses du S-gaïazulène est d'avoir apporté la preuve cruciale de leur structure, ces synthèses n'ont, par ailleurs, aucune valeur pratique actuelle.

L'extrême difficulté de telles recherches explique que leur conclusion est toute récente et se situe de 1946 à 1949. La première tentative synthétique ayant permis d'approcher du S-gaïazulène fut celle de PLATTNER et WYSS (81) qui obtinrent le 1,4-diméthylazulène, en 1940, à partir de la 4-méthylindanone. En 1944, à partir du 1,4-diméthyl-6-isopropyl-indane, par la méthode de l'ester diazoacétique, fut obtenu un mélange d'azulènes, parmi lesquels paraissait se trouver une petite quantité de S-gaïazulène.

En 1949, PLATTNER, FURST, MARTI et SCHMID (70) atteignirent une réussite complète à partir du m.cymène obtenu lui-même par la méthode de KELBE à partir du chlorure d'isopropyle et du toluène; ce m.cymène n'était pas pur et contenait encore 20 % de p.cymène, d'où par chloruration on obtenait le mélange

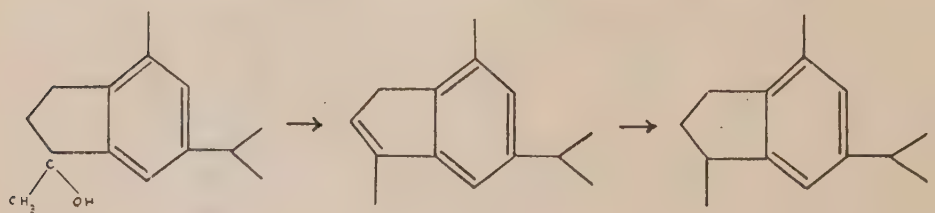
Par condensation avec l'ester malonique, saponification et décarboxylation on passe à un mélange d'acides isopropyl hydrocinnamiques :

Par cristallisations fractionnées, il est permis d'isoler du mélange l'acide 2-méthyl-4-isopropyl-1-hydrocinnamique à l'état pur, qui par cyclisation donne une méthylisopropylindanone, dont on peut identifier la position respective du



groupe méthyl et des points d'attache du cycle pentagonal par référence sur l'ester tétraméthylique de l'acide benzène 1, 2, 3, 5, tétraoïque ou acide mellophanique, obtenu par oxydation de l'isodurol (1, 2, 3, 5 tétraméthyl benzène).

La 4-méthyl-6-isopropyl-indanone-(1) est condensée avec le bromure de méthylmagnésium; le carbinol tertiaire correspondant est déshydraté, puis transformé en 1,4-diméthyl-6-isopropyl-indane par hydrogénation sur le platine. Ce dérivé



est alors condensé avec l'ester diazoacétique; on saponifie et le produit obtenu est déshydrogéné. Plusieurs azulènes se forment, que l'on ne peut parvenir à séparer par les picrates ou les trinitrobenzolates.

Suivant une méthode dont les auteurs ne donnent pas le détail, la chromatographie permet d'extraire du mélange du S-gaïazulène à l'état pur.

5) PROPRIETES PHYSIQUES

Molécule remarquablement dissymétrique, le S-gaïazulène a donné lieu à un grand nombre d'études physico-chimiques.

Le produit pur, fond à 32°; il est nettement odorant. Son insolubilité dans l'eau nous a incité à le mettre en suspension dans des solutions de tween 20 et 80 avec lesquels il forme des systèmes assez stables, dont la coloration bleue est encore perceptible à des dilutions de 10^{-7} en S-gaïazulène.

L'étude spectrale a été très poussée, en particulier par RUZICKA et ses collaborateurs, puis aux Usines Givaudan de Genève-Vernier par SUSZ, PFAU et PLATTNER. Dans l'ultra-violet, les spectres d'absorption de l'azulène fondamental, du gaïazulène et du vétivazulène sont très semblables, la concordance est également très grande dans le visible. Ces caractères confirment bien l'existence dans les trois corps du même édifice non saturé (65).

Les points de fusion des dérivés caractéristiques du S-gaïazulène sont les suivants, d'après NAVES (61).

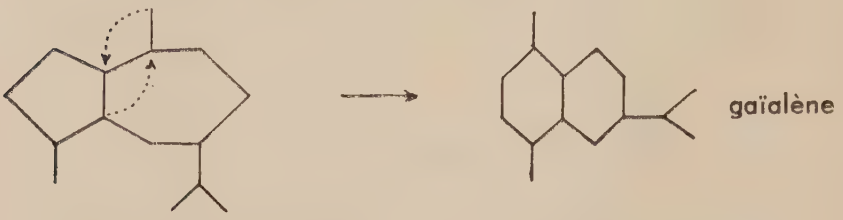
Trinitrobenzénate	151° -151°5
Trotylate	88°5- 89°
Picrate	122° -122°5
Styphnate	105° -106°

6) PROPRIETES CHIMIQUES

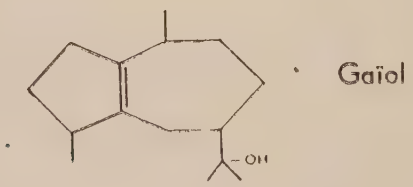
Stable à froid au contact de l'air, des alcalis et des acides même concentrés, le S-gaïazulène est fragile à chaud.

Suivant les prévisions conformes aux données énergétiques acquises, le S-gaïazulène se transforme unilatéralement lors-

qu'on le chauffe à 300° en présence de silicagel en 1,4-diméthyl-6-isopropyl naphtalène ou gaïalène, en même temps apparaissent divers naphtalènes substitués autres que le gaïalène :

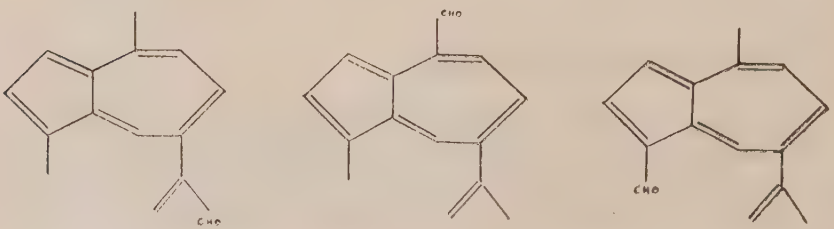


Le gaïalène accompagne toujours le S-gaïazulène, lorsque celui-ci est préparé à chaud, quelle que soit la matière première envisagée. Ainsi le gaïol réduit et déshydraté à chaud, en présence de P + HI, donne un mélange de S-gaïazulène et gaïalène.



Le S-gaïazulène se laisse très facilement réduire en dérivés incolores.

Toute une série de dérivés peuvent être prévus à partir du S-gaïazulène par oxydation en alcool ou aldéhyde ou acide des groupements substitués. Une mono-aldéhyde a déjà été signalée, c'est la lactariovioline, qui, d'après PLATTNER et HEILBRONNER (72), doit répondre à l'une des trois constitutions suivantes :



qui paraît être un agent chimiothérapique très actif contre le bacille tuberculeux. Il est vraisemblable que les aldéhydes dérivées du S-gaïazulène soient promises, si elles parviennent à être fabriquées en quantités suffisantes, à un grand intérêt en pharmacodynamie.

FORMES D'UTILISATION DU S-GAIAZULENE

Le S-gaïazulène a été employé à l'état pur toutes les fois que les conditions de l'expérimentation l'ont permis. Par ailleurs, nous l'avons utilisé soit en solution, soit en émulsion, soit en pommade.

SOLUTIONS ET EMULSIONS

La très faible solubilité du S-gaïazulène dans l'eau nous a contraint à le dissoudre dans un véhicule huileux (huile d'olive neutralisée dans le cas des essais sur la souris) ou à l'émulsionner au moyen d'une substance adjuvante du groupe des tweens.

Les tweens sont des produits de soudure de chaines polyoxyéthyléniques aux spans. Les spans sont des esters d'hexitans et d'hexides, dérivés du sorbitol, avec des acides gras (acides laurique, palmitique, stéarique et oléique).

Les tweens sont des produits solubles ou dispersibles dans l'eau. Les substances qu'elles ont en solution peuvent être émulsionnées ou même solubilisées en donnant des liqueurs plus ou moins limpides.

F. JUNG, H. ARNOLD, W. SCHŒTENSACK et J. BRUNO (48) mentionnent que le tween 60 (monostéarate de polyoxyéthylène sorbitan), « qui paraît pharmacologiquement indifférent sur la muqueuse de l'œil, supprime complètement l'action des azulènes ».

Nous avons donc utilisé, comparativement, toutes les fois que nous l'avons pu, le tween 20 (monolaurate de polyoxyéthylène sorbitan) et le tween 80 (monooléate de polyoxyéthylène sorbitan).

Préparations des émulsions de S-Gaiazulène Tweenées.

La préparation des émulsions a été effectuée en deux temps :

Premier temps. — Solubilisation du S-gaïazulène dans le tween à parties égales (pour les essais sur les bactéries, les végétaux à l'exception du Radis, le Poisson, la motricité de l'intestin du chien in situ, les organes isolés) ou à 50 % de tween par rapport à l'azulène (essai sur racine de Radis isolée).

Deuxième temps. — Emulsion, de la solution obtenue, dans l'eau de manière à obtenir le titre voulu en produit.

Les émulsions de S-gaïazulène sont bleues et lactescentes avec le tween 20 et bleues et très légèrement opalescentes avec le tween 80.

POMMADES

Le S-gaïazulène a été utilisé en pommade dans les essais portant sur le traitement des érythèmes cutanés. L'excipient choisi était constitué par un mélange à parties égales de lanoline et de vaseline.

EFFETS DU S-GAIAZULENE SUR LES VEGETAUX

I. — RECHERCHES SUR LES SCHIZOPHYTES

II. — RECHERCHES SUR LES VÉGETAUX SUPERIEURS

(1) ACTION SUR LA GERMINATION ET LE DEVELOPPEMENT DES PLANTULES DE QUELQUES PHANEROGAMES ANGIOSPERMES.

(2) ACTION SUR LEMNA MINOR L. (LEMNACEES).

(3) CONCLUSIONS.

I. - RECHERCHES SUR LES SCHIZOPHYTES

ESSAIS DE DÉTERMINATION DE TOXICITE VIS-A-VIS DU STAPHYLOCOQUE DORÉ ET DU COLIBACILLE

L'activité antimicrobienne (ou antiseptique) d'une substance peut conduire : soit à l'arrêt de la multiplication des germes éprouvés (l'action ainsi réalisée est dite bactériostatique ou antigénétique), soit à la mort des germes éprouvés (l'action ainsi réalisée est dite bactéricide ou antibiotique).

Les principales méthodes proposées chiffrent le pouvoir antibiotique des produits essayés en un rapport :

$$\frac{\text{dilution de l'antiseptique}}{\text{dilution du phénol}}$$

appelé « coefficient phénol ». Le rapport est établi en déterminant la plus petite quantité de phénol et la plus petite quantité de l'antiseptique étudié, susceptibles de tuer le germe considéré, dans un temps précis.

Toutes ces déterminations nécessitent l'emploi d'un matériel très propre et soigneusement préparé. Il faut pouvoir disposer de :

- souches pures;
- un bouillon de culture stérile, destiné à la préparation des souches et à la vérification de l'action bactéricide après l'agression de l'antiseptique;
- un milieu nutritif stérile suffisamment limpide pour que l'on puisse suivre macroscopiquement la multiplication des germes, au cours de l'action antigénétique, d'après l'opacification du liquide;
- tubes stériles destinés à être le siège de l'action antigénétique;

— pipettes stériles pour la préparation des suspensions microbiennes et pour leur répartition;

— pipettes graduées stériles pour la préparation des milieux à essayer;

— une öse en platine (la partie distale de celle que nous avons utilisée était arrondie en un anneau mesurant 4 mm. de diamètre).

Les souches.

Nos essais ont porté sur deux espèces microbiennes : le Staphylocoque doré et le Colibacille.

Leur pureté a été régulièrement vérifiée tout au long de nos essais. Conservés sur gélose glucosée, les germes étaient ensemencés en bouillon maintenus à l'étuve à 37° et déjà repiqués toutes les 24 heures à partir du quinzième jour avant le début des essais. Une telle précaution était destinée à adapter nos souches à nos milieux de culture.

Le bouillon de culture.

Le bouillon que nous avons employé était du bouillon ordinaire préparé comme suit :

Faire macérer, à froid, pendant 6 à 12 heures, dans 1.000 grammes d'eau, 500 grammes de viande de bœuf hachée et dégraissée. Exprimer le mélange. Répandre 10 grammes de peptone pancréatique à la surface. Laisser dissoudre. Puis ajouter 1 gramme de glucose et 20 grammes de carbonate de chaux. Faire bouillir 10 minutes. Après filtration jusqu'à clarification sur un papier filtre mouillé pour débarrasser des traces de graisse (plusieurs filtrations sont parfois nécessaires), alcalinisation à pH 7,4 par le carbonate de calcium et nouvelle filtration, répartir le bouillon dans des tubes qui reçoivent chacun 5 cm^3 du liquide.

Les tubes, bouchés avec des bourres en coton cardé, sont portés à l'autoclave et stérilisés pendant 1 heure à la température de 110°.

Le milieu peptoné.

Le milieu peptoné destiné à nos essais antigénétiques répondait à la formule suivante :

Peptone pancréatique	2,00 g.
Chlorure de sodium.....	0,50 g.
Glucose	0,40 g.
Eau distillée q.s.p.....	100 cm³

La filtration, l'alcalinisation, la répartition en tube et la stérilisation étaient opérées comme pour le bouillon.

Préparation de la verrerie.

Les tubes.

Les tubes soigneusement lavés et séchés, puis obturés au moyen d'une grosse bourre de coton cardé, étaient stérilisés à l'étuve sèche, à la température de 160° pendant 1 heure.

Les pipettes.

Toutes les pipettes étaient munies, dans leur partie supérieure, d'une bourre en coton cardé. Elles étaient soigneusement lavées, puis passées à l'alcool et mises à tremper entièrement dans de l'éther. Elles étaient séchées par un courant d'air, au moment de l'emploi.

ESSAIS ANTIMICROBIENS

1) DETERMINATION DE L'ACTION ANTIBIOTIQUE

Elle a été réalisée selon la technique de RIDEAL et WALKER, modifiée par F. CAUJOLLE, R. DELAS et E. STANISLAS (22).

Technique opératoire.

Des tubes sont répartis en quatre colonnes dans des portetubes. La première colonne est composée de tubes vides et les trois suivantes de tubes contenant 5 cm³ de bouillon.

Chaque tube vide reçoit :

— un volume d'émulsion-mère de S-gaïazulène, correspondant à la dilution finale désirée,
— une quantité d'eau distillée stérile destinée à amener le liquide au volume total de 5 cm^3,
— 5 gouttes d'une suspension de germes.

L'addition des microbes était prévue de telle sorte qu'un ensemencement était fait toutes les 30 secondes. Comme les repiquages, en milieu de subculture, étaient faits à partir de la cinquième minute qui suivait le premier ensemencement, il n'était pas possible d'opérer sur plus de dix dilutions au cours d'une même série d'essais.

En fait, nous avons toujours réalisé cinq paires de dilutons, afin d'avoir un contrôle rapide quant à la correction de la manipulation.

Les bacilles sur lesquels ont porté les essais ont été prélevés sur une culture de 22-26 h., en bouillon tenu à l'étuve à 37°, bien homogénéisé par agitation.

S. LAMBIN et M. ROBERT (57), dans un travail récent, ont montré que le nombre de germes a une influence notable sur la détermination des actions antimicrobiennes. Ces auteurs soulignent qu'il convient d'opérer avec des suspensions microbiennes de titre suffisamment bien connu.

Nos premiers essais nous ayant montré le faible pouvoir antimicrobien du S-gaïazulène, nous n'avons pas crû devoir préciser le nombre de germes soumis à l'action de ses émulsions. Cependant, nous avons tenu à réaliser tous nos essais dans des conditions assez comparables. Pour cela, nous sommes partis de suspensions de germes dont la densité optique avait été amenée à une valeur précise par addition de bouillon stérile. L'appréciation de l'opacité était faite au moyen d'un photocolorimètre.

Repiquage en milieu de subculture.

De même que les ensemencements en milieu à essayer étaient faits à raison de un toutes les trente secondes, les repiquages en milieu de subculture étaient effectués suivant le même rythme et dans l'ordre de distribution des germes observé lors de l'ensemencement

La deuxième colonne de tubes de notre dispositif était ensemencée à partir de la cinquième minute suivant le début de la distribution des germes; la troisième colonne dès la dixième minute et la quatrième colonne dès la quinzième minute. Après cela, tous les tubes étaient portés à l'étuve à 37° et examinés à partir de la vingt-quatrième heure jusqu'à cinq jours après l'action du S-gaïazulène.

Résultats

Nous avons contrôlé l'action d'émulsions de S-gaïazulène titrant jusqu'à 1,6 % en produit pur. Nous n'avons jamais observé de pouvoir antibiotique sur le Colibacille et sur le Staphylocoque doré, même après avoir soumis ces germes, pendant quinze minutes, à l'action du S-gaïazulène.

Tenant compte du fait que des concentrations plus fortes sont sans intérêt pratique en thérapeutique, des difficultés de production et du prix de revient du produit, nous avons arrêté là nos essais sur l'action microbicide.

2) DETERMINATION DU POUVOIR ANTIGENETIQUE

La détermination du pouvoir antigénétique d'une substance se fait en soumettant des corps microbiens vivants, en milieu nutritif, à l'action de quantités connues de cette substance.

Le tout est abandonné à l'étuve à 37° et l'on vérifie, dans les jours suivants, si il y a eu multiplication des germes ou non. Il convient, pour les actions faibles, de poursuivre l'observation pendant au moins six jours.

On recherche la concentration qui inhibe la prolifération des micro-organismes.

Technique opératoire.

Nous avons utilisé un milieu peptoné concentré tel que 4 cm^3 contenaient la même quantité de substances dissoutes que 5 cm^3 du milieu peptoné type.

Après addition des émulsions de S-gaïazulène, nous com-

plétions à 5 cm³ avec de l'eau distillée stérile, quand ce volume n'était pas atteint.

Des germes prélevés avec l'anneau de notre öse en platine, dans une suspension en culture de 24 h. à l'étuve à 37°, bien homogénéisée par violente agitation, étaient ensemencés dans chaque tube.

Tous les tubes, encapuchonnés avec des coiffes en caoutchouc, étaient mis à l'étuve à 37° et régulièrement observés dans les jours suivants.

L'addition de S-gaïazulène rendant les milieux assez opaques, nous avons contrôlé l'évolution des cultures au photocolorimètre et en procédant à l'examen microscopique après coloration par la méthode de GRAM.

Résultats

Nous avons essayé l'action du S-gaïazulène titrant jusqu'à 0,5 % dans le milieu. Aucun effet bactériostatique ne s'est manifesté sur le Staphylocoque doré et sur le Colibacille.

CONCLUSIONS

Les essais que nous avons réalisés démontrent que le S-gaïazulène en émulsion tweenée, à la concentration de 1,6 %, est incapable de détruire le Staphylocoque doré et le Colibacille dans le temps de quinze minutes. Ce corps s'est également montré incapable d'arrêter le développement des germes précités pour la concentration de 0,5 %.

En relation avec le faible pouvoir antigénétique du S-gaïazulène, nous signalons que des Algues vertes non déterminées qui ont souillé certains de nos milieux de culture pour végétaux supérieurs, ont évolué et se sont reproduites, sans gêne apparente, dans un milieu titrant 1 ‰ en notre produit.

II. - RECHERCHES SUR LES VEGETAUX SUPERIEURS

Dans ce chapitre, nous rendrons compte de l'action du S-gaïazulène :

1° **SUR LA GERMINATION ET LE DEVELOPPEMENT DES PLANTULES DE QUELQUES PHANEROGAMES ANGIOSPERMES.**

2° **SUR LA LENTILLE D'EAU** LEMNA MINOR **L. (LEMNACEES).**

I

Action du S-gaïazulène sur la germination des semences et sur le développement des jeunes plantules de phanérogames

INTRODUCTION

Nous avons d'abord étudié les effets du S-gaïazulène sur la germination et sur les premiers stades du développement de trois Monocotylédones :

le Poireau, *Allium porrum* (L.)	Liliacées
l'Oignon, *Allium cepa* (L.)	Liliacées
le Ray grass, *Lolium perenne* (L.)	Graminées

et de six Dicotylédones :

le Navet, *Brassica Napus var. esculenta* (D.C.)	Crucifères
le Colza, *Brassica Napus var. oleifera* (D.C.)	Crucifères
la Moutarde blanche, *Sinapis alba* (L.)	Crucifères
la Luzerne, *Medicago sativa* (L.)	Papilionacées
le Lin, *Linum usitatissimum* (L.)	Linacées
la Laitue, *Lactuca sativa* (L.)	Composées

Afin de préciser certaines remarques que nous avons été amené à faire, les effets du S-gaïazulène ont été suivis sur deux espèces dont les semences et les plantules sont de dimensions particulièrement propices à des investigations micrographiques. Pour cela, nous avons choisi :

le Haricot, *Phaseolus vulgaris* (L.)	Papilionacées
le Lupin, *Lupinus albus* (L.)	Papilionacées

Enfin, il nous a paru intéressant de rechercher si les réponses d'un organe isolé, tel que la racine, sont identiques à celles observées quand il appartient à la plante entière. Pour cela, nous avons procédé à des essais sur la racine isolée du

Radis, *Raphanus sativus* (L.)	Crucifères

maintenue en survie dans un milieu de culture stérile.

1° ACTION DU S-GAIAZULENE SUR LA GERMINATION ET SUR LES PREMIERS STADES DU DEVELOPPEMENT DES PHANEROGAMES

Mode opératoire

Les semences des plantes étudiées ont été réparties en trois groupes sur lesquels nos essais ont porté simultanément.

— le premier groupe était cultivé en eau bidistillée pure;
— le deuxième groupe était cultivé en eau bidistillée tweenée;
— le troisième groupe était cultivé en eau bidistillée tweenée et chargée en S-gaïazulène.

La technique est celle de F. CAUJOLLE et G. BERGAL (20-21), adaptée aux conditions de nos essais. Nous avons adopté le mode opératoire suivant : dans des boîtes de Pétri, en verre dur, de 10 cm. de diamètre, 50 graines de l'espèce étudiée sont disposées sur une couche homogène de coton hydrophile (1,5 gr. par boîte), recouvert d'un disque de papier Joseph blanc lavé. Chaque boîte reçoit soit 25 cm^3 d'eau distillée (1er groupe), soit 25 cm^3 de solution aqueuse de tween 20, de tween 80 (2e groupe) ou de quantités égales de S-gaïazulène et de tween 20 ou de tween 80 (3e groupe). Les cultures sont pratiquées à 20-25°, en demi obscurité.

Le pourcentage des germinations est déterminé, selon l'espèce végétale considérée et la saison, dans les deux à cinq jours qui suivent l'ensemencement.

Pour considérer le développement des plantules sur des lots aussi homogènes que possible, on garde, dans chaque boîte, dix individus ayant évolué de façon très semblable, ayant en particulier germé le même jour. Les pousses à germination hâtive ou tardive sont éliminées dans cette sélection.

La mensuration des radicules et des tigelles est effectuée quotidiennement afin de suivre l'accroissement des organes jusqu'au quatrième jour après la germination. La longueur des racines et leur pénétration dans la masse de coton ne permettent pas de mesures correctes au delà de ce temps

A) ACTION DU TWEEN 20 ET DU TWEEN 80

La toxicité du twen 20 et celle du tween 80 vis-à-vis des végétaux supérieurs a été étudiée par F. CAUJOLLE, R. LEPAULT et C. MOSCARELLA (23). Ces auteurs ont montré que le tween 20 et le tween 80, en solution aqueuse de concentration comprise entre 10^{-7} et 10^{-2}, n'exercent aucune influence perturbatrice sur le pouvoir germinatif des espèces précitées. Cependant, l'action du S-gaïazulène, en solution tweenée, se manifestant déjà à des concentrations très inférieures à 10^{-3}, nous avons recherché les effets propres des tweens 20 et 80 mis en solutions aqueuses de titres s'étageant de 10^{-9} à 10^{-3}.

Nos observations nous permettent de confirmer que, chez les espèces considérées, et comparativement aux échantillons cultivés en eau bidistillée :

— les tweens 20 et 80 n'affectent pas la germination et le développement des plantules quand ils ne titrent pas plus que 10^{-2} dans les milieux de culture.

B) ACTION DU S-GAIAZULENE

La croissance de quarante individus de chaque espèce étudiée a été suivie pour déterminer l'action du S.-gaïazulène aux titres de 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 5.10^{-5}, 10^{-4}, 5.10^{-4}, et 10^{-3} dans les émulsions aqueuses tweenées. Les milieux liquides étaient préparés par dilution en eau bidistillée d'une émulsion mère titrant 10^{-2} en S-gaïzulène et en tweens 20 ou 80.

Les constatations que nous avons faites portent sur des modifications concernant :

a) la germination des semences,

b) la croissance des axes,

c) le développement des poils absorbants,

d) la fixation du S-gaïazulène par la plantule.

a) Germination des semences

Sauf sur la Luzerne et la Laitue, où une légère stimulation

se manifeste, le S-gaïazulène n'exerce aucune influence sur les pourcentages de germination des espèces étudiées, comme le témoignent les résultats réunis dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU N° 1

	Espèces étudiées	GERMINATION % EN PRESENCE DE S-GAIAZULENE + TWEN 20 AUX CONCENTRATIONS DE :					
		0 (témoin)	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Monocotylédones	Poireau	58	60	60	56	50	44
	Oignon	56	56	56	62	56	64
	Ray grass	81	79	85	87	79	84
Dicotylédones	Navet	88	77	89	90	83	82
	Moutarde	96	97	97	85	91	99
	Colza	80	72	74	77	81	74
	Lin	91	93	93	97	92	93
	Luzerne	82	80	92	88	95	95
	Laitue	57	55	68	60	56	61

b) **Croissance des axes :**

Les Monocotylédones et les Dicotylédones n'ayant pas réagi à la présence de S-gaïazulène de façon tout à fait comparable, nous considérerons sucessivement dans ces deux groupes les résultats que nous avons notés.

Monocotylédones

α) **Tigelles.**

Dans ce groupe, la croissance en longueur de la tigelle est inhibée pour toute concentration égale ou supérieure à 10^{-7}. Parmi les trois espèces étudiées, l'oignon est le plus sensible à cette action et l'inhibition de sa tigelle, pour cette dose, atteint déjà — 27 % par rapport au témoin.

En milieu titrant 10^{-3} en S-gaïazulène, la valeur moyenne de l'effet constaté est comprise entre — 63 % (oignon) et — 79 % (poireau) comme l'indiquent nos résultats (tableaux n^{os} 2 et 3).

TABLEAU N° 2

LONGUEUR DES TIGELLES EN MM. AU QUATRIEME JOUR DE CROISSANCE

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE					
	0 (témoin)	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Poireau	28	25	27	23	9	6
Oignon	30	22	23	21	19	11
Ray grass	29	28	28	26	8	7

TABLEAU N° 3

POURCENTAGES D'INHIBITION PAR RAPPORT AUX TEMOINS

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE				
	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Poireau	— 10	— 4	— 19	— 67	— 79
Oignon	— 27	— 23	— 30	— 37	— 63
Ray grass	— 3	— 3	— 10	— 72	— 76

β) **Radicules.**

Le S-gaïazulène exerce une action inhibitrice notable sur la croissance en longueur des radicules dès la concentration de 10^{-7} pour l'Oignon et le Ray-grass, qui se sont pourtant

Graphique n° 1

a-a' Courbes de croissance du Poireau.
b-b' Courbes de croissance de l'Oignon.
c-c' Courbes de croissance du Ray-grass.
——— Croissance de la radicule.
- - - - Croissance de la tigelle.

montrés assez indifférents dans les milieux titrant 10^{-6}, et 10^{-4} pour le Poireau.

Dans tous les cas l'action inhibitrice est maxima dans

TABLEAU N° 4

LONGUEUR DES RADICULES EN MM. AU QUATRIEME JOUR DE CROISSANCE

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE					
	0 (témoin)	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Poireau	20	23	21	20	13	11
Oignon	21	15	21	15	18	17
Ray grass	53	47	51	47	47	42

TABLEAU N° 5

POURCENTAGES D'INHIBITION DES RADICULES PAR RAPPORT AUX TEMOINS

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE				
	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Poireau	+ 13	+ 5	0	— 33	— 45
Oignon	— 29	0	— 29	— 14	— 19
Ray grass	— 11	— 4	— 11	— 11	— 21

les milieux titrant 10^{-3} en produit actif. Pour cette concentration, l'effet est maximum pour le Poireau (— 45% par rapport au témoin) et minimum pour l'Oignon et le Ray-grass (— 19 et — 21 % par rapport aux témoins) comme en témoignent les tableaux ci-dessous (Tableaux n°s 4 et 5):

Dicotylédones

α) **Tigelles.**

La croissance en longueur de la tigelle est inhibée pour toute concentration comprise entre 10^{-3} et $5{,}10^{-4}$. L'inhibi-

tion de la croissance se produit encore chez la Luzerne et chez la Laitue soumise à l'action d'un milieu contenant 10^{-5} du produit. La valeur moyenne de cette inhibition est de l'ordre de — 40 à — 60 % par rapport aux témoins, chez les sujets dont l'évolution se fait dans un milieu qui titre 10^{-3} en S-gaïazulène (Planche n° 2).

Elle est plus élevée pour la Laitue et plus faible pour le Navet, ainsi qu'en témoignent les résultats ci-dessous (Tableaux n°s 6 et 7).

TABLEAU N° 6

LONGUEUR DES TIGELLES EN MM. AU QUATRIEME JOUR DE CROISSANCE

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE				
	0 (témoin)	5.10^{-5}	10^{-4}	5.10^{-4}	10^{-3}
Navet	37	39	30	26	17
Moutarde	27	26	16	11	10
Colza	34	32	13	11	12
Laitue	26	18	8	6	6
Luzerne	37	14	14	15	12
Lin	23	20	10	9	8

TABLEAU N° 7

POURCENTAGES D'INHIBITION PAR RAPPORT AUX TEMOINS

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE			
	5.10^{-5}	10^{-4}	5.10^{-4}	10^{-3}
Navet	+ 5	— 18	— 28	— 53
Moutarde	— 3	— 42	— 59	— 64
Colza	— 4	— 63	— 66	— 63
Laitue	— 30	— 72	— 76	— 76
Luzerne	— 55	— 55	— 54	— 61
Lin	— 11	— 56	— 62	— 65

β) **Radicules.**

La croissance en longueur de la radicule des jeunes plantules de presque toutes les espèces étudiées est stimulée par le S-gaïazulène : l'allongement est plus rapide que celui des témoins, les pivots sont plus grêles (Planche n° 2).

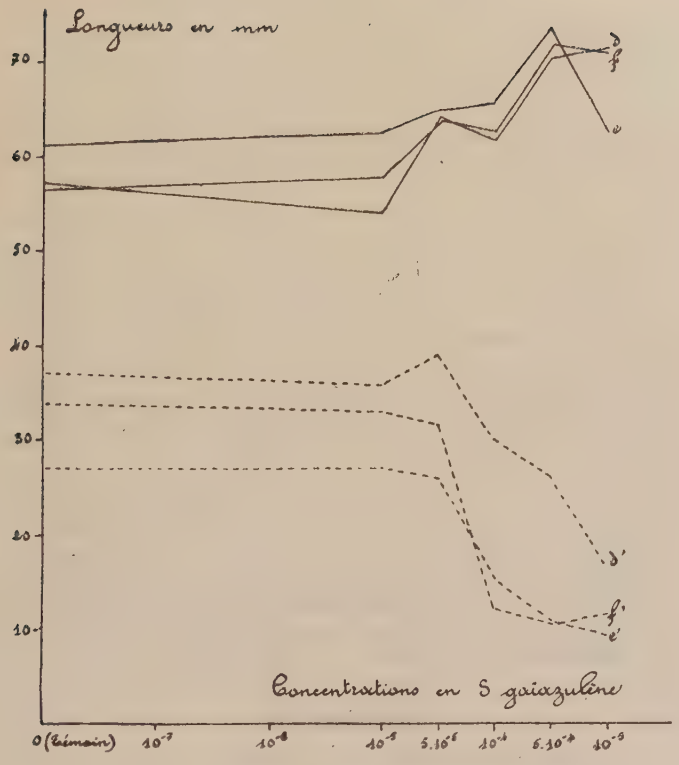
Les Crucifères sont particulièrement sensibles à cette action. La stimulation se manifeste encore nettement chez la Luzerne. Elle existe chez la Laitue, mais le Lin se montre assez indifférent, tandis que l'allongement radiculaire est ralenti chez le Ray-grass dès la concentration de 10^{-4}.

Dans tous les cas où l'action est favorable à la croissance, les effets se manifestent dès la concentration de 5.10^{-3} (Navet, Colza et Moutarde) ou 10^{-3} (Luzerne, Laitue). La stimulation est maxima pour les concentrations de 10^{-3} à 10^{-4}. La valeur moyenne des allongements allait en général de + 15 à + 25 % par rapport aux témoins pour les concentrations de 5.10^{-3} et 10^{-3} comme en témoignent les résultats ci-dessous :

TABLEAU N° 8

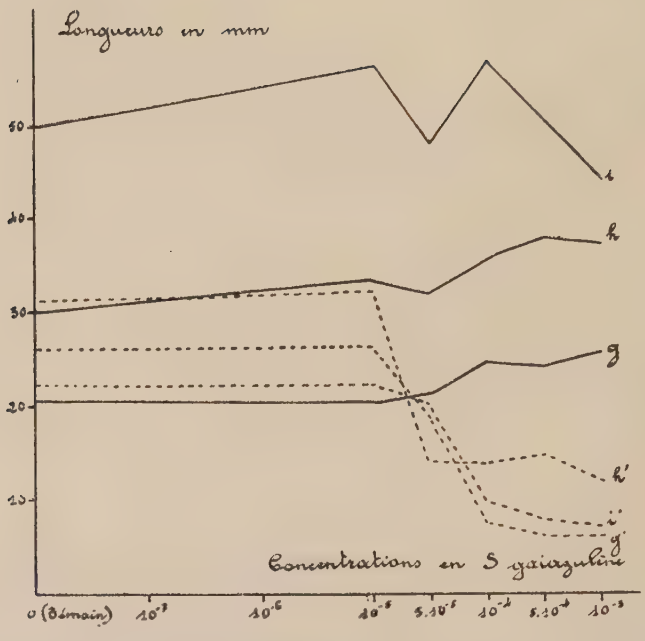
LONGUEUR DES RADICULES EN MM. AU QUATRIEME JOUR DE CROISSANCE

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE				
	0 (témoin)	5.10^{-5}	10^{-4}	5.10^{-4}	10^{-3}
Navet	57	65	62	71	72
Moutarde	62	65	66	74	64
Colza	57	64	63	76	71
Laitue	21	21	24	24	26
Luzerne	30	32	36	38	37
Lin	50	48	56	50	44



Graphique n° 2

d-d' Courbes de croissance du Navet.
e-e' Courbes de croissance de la Moutarde.
f-f' Courbes de croissance du Colza.
——— Croissance de la radicule.
- - - - Croissance de la tigelle.



Graphique n° 3

g-g' Courbes de croissance de la Laitue.
h-h' Courbes de croissance de la Luzerne.
i - i' Courbes de croissance du Lin.
——— Croissance de la radicule.
- - - - Croissance de la tigelle.

TABLEAU N° 9

POURCENTAGES D'ACTIVATION DES RADICULES PAR RAPPORT AUX TEMOINS

Espèces étudiées	CONCENTRATIONS EN S-GAIAZULENE			
	5.10^{-5}	10^{-4}	5.10^{-4}	10^{-3}
Navet	+ 11	+ 4	+ 24	+ 26
Moutarde	+ 5	+ 8	+ 20	+ 3
Colza	+ 12	+ 10	+ 25	+ 25
Laitue	+ 2	+ 17	+ 16	+ 24
Luzerne	+ 6	+ 18	+ 25	+ 23
Lin	— 4	+ 10	0	— 10

Le S-gaïazulène exerce une action inhibitrice sur les tigelles de toutes les Angiospermes essayées. Mais, de la comparaison des tableaux 4, 5, 8 et 9, il ressort que les réponses des radicules en présence du produit actif sont tout à fait opposées (les variations observées sur le Lin traduisent l'indifférence de cette espèce vis-à-vis du S-gaïazulène dans les conditions de notre expérimentation), selon qu'il s'agisse de Dicotylédones ou de Monocotylédones.

c) Développement des poils absorbants

Le nombre et la longueur des poils absorbants régressent nettement chez tous les sujets quand le milieu de culture titre, au moins 10^{-5} en S-gaïazulène. L'absence du système pilifère est à peu près totale pour la concentration de 10^{-3}. Nous avons constaté une inhibition maxima chez le Colza (Planche n° 1), la Laitue et la Luzerne.

Peut-être doit-on voir dans l'allongement excessif de la radicule un moyen de compenser la réduction de sa surface d'absorption.

ACTION DU S-GAIAZULENE SUR LE COLZA

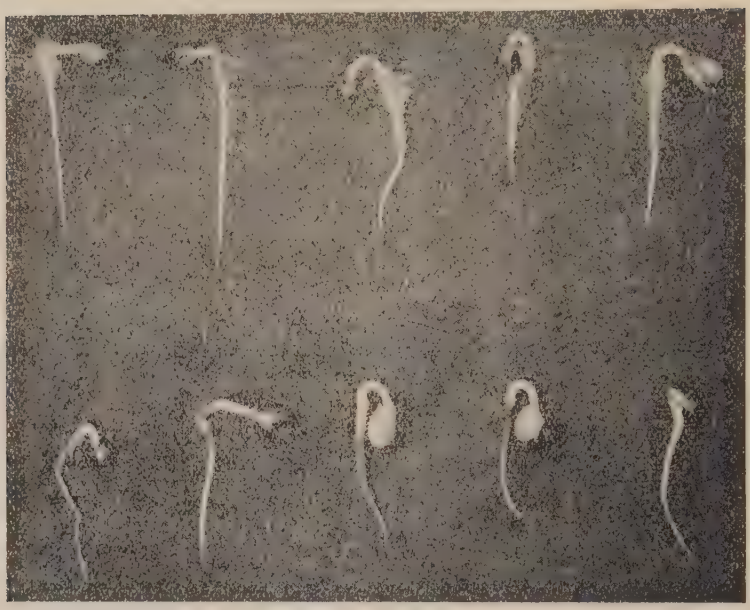


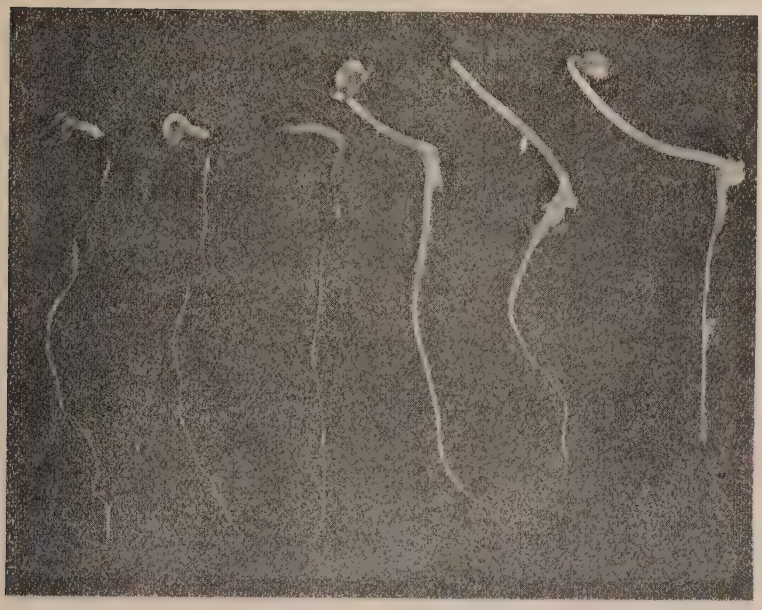
Planche n° 1

Plantules au deuxième jour de croissance

En A (témoins) : Développement normal des plantules. Les poils sont abondants et longs.

En B (action du S-gaïazulène à la concentration de 10^{-3}) : la radicule a déjà fixé le produit et la disparition des poils est à peu près totale.

ACTION DU S-GAIAZULENE SUR LE COLZA



A B

Planche n° 2

Plantules au quatrième jour de croissance

En A : Plantules soumises à laction du S-gaïazulène à la concentration de 10^{-3}.

Remarquer le faible allongement des tiges, la coloration, la croissance plus rapide, l'aspect grêle des radicules et la disparition des poils absorbants.

En B : Témoins.

d) Fixation du S-gaïazulène par la plantule

Indépendamment de la couleur superficielle bleue que nous avons observée sur les échantillons soumis à l'action du S-gaïazulène, couleur traduisant une absorption superficielle résultant de contact prolongé du produit avec les plantules, nous avons constaté que le S-gaïazulène peut être fixé par toutes les parties du végétal. Le siège d'élection de cette fixation varie au cours du développement des espèces étudiées. La tigelle et les cotylédons sont les premiers organes colorés par l'hydrocarbure. Ce n'est, en effet, que dans les quarante-huit heures suivantes que la radicule acquiert une coloration bleuâtre, verdâtre ou violacée. La tigelle blanchit déjà souvent à ce moment.

2° ACTION SUR LE HARICOT ET SUR LE LUPIN

Les dimensions des semences et des plantules utilisées au cours des déterminations précédentes ne permettant pas de faire des investigations suffisamment précises, à propos des phénomènes dont les plantules étaient le siège, nous avons suivi l'action du S-gaïazulène sur le Haricot et sur le Lupin qui constituent un matériel plus approprié à nos recherches.

A) RECHERCHES PRELIMINAIRES

Mode opératoire

Des semences de ces deux espèces ont été traitées par des émulsions tweenées de S-gaïazulène aux concentrations de 10^{-5} à 10^{-6}, selon le même mode opératoire déjà décrit pour les autres espèces.

Résultats. — La germination des semences de Lupin a été affectée dans la proportion de — 33 %, par rapport aux témoins, à la dose de 10^{-3}. A part cette exception, nous avons observé des effets en tous points comparables à ceux signalés à propos des essais réalisés sur les Dicotylédones précitées, c'est-à-dire :

— pas d'influence sur le taux de germination des semences de Haricot,

— inhibition du développement des tigelles (— 75 % par rapport aux témoins, pour la concentration de 10^{-3}),

— stimulation de l'allongement radiculaire (+ 30 % par rapport aux témoins, pour la concentration de 10^{-3}),

— variation de teinte de la tigelle, des cotylédons et de la radicule, en fonction de l'âge de la plantule.

B) RECHERCHES SUR LA PENETRATION LA LOCALISATION ET LE MODE D'ACTION DU S-GAIAZULENE

Sur le Haricot et le Lupin, nous avons essayé d'acquérir des précisions quant à la pénétration du S-gaïazulène, sa localisation et les variations de la longueur des axes sous son influence.

Mode opératoire

Nous avons procédé, dès la germination, et quotidiennement, à des sections longitudinales et transversales des téguments, des cotylédons, des tigelles et des radicules.

Résultats. — A la suite d'examens macroscopiques et microscopiques, nous avons fait les observations suivantes :

— le tégument bleuit, mais n'est pas entièrement traversé par le corps coloré;

— la surface des cotylédons et celle de la tigelle bleuissent dès qu'elles sont libérées de leur enveloppe tégumentaire;

— le bleuissement des cotylédons et de la tigelle résulte d'une absorption, par les stomates, de vapeurs de S-gaïazulène. L'absorption est suivie de migration vers les régions profondes. La migration s'effectue par la voie lacunaire, mais il y a aussi passage de l'hydrocarbure à travers les membranes cellulaires. Nous avons, en effet, constaté la présence d'azulène dans les cellules annexes des stomates et dans des cellules parenchymateuses, d'apparence banale, plus profondément localisées.

Ces données ont pu être établies grâce à l'usage de dispositifs spéciaux permettant de cultiver les plantules en protégeant complètement certains organes du contact direct avec le S-gaïazulène et par l'examen microscopique de différentes préparations des végétaux.

C) PREUVES DE L'ABSORPTION DE L'AZULENE PAR LES STOMATES

Mode opératoire

Des béchers de verre dur d'une contenance de 100 cm^3 sont pourvus d'une cloison transversale constituée par une bande de gaze ou deux couches de papier imperméabilisé, séparées par une bande de gaze, fixées à mi hauteur de la cavité du vase. Deux compartiments rigoureusement isolés l'un de l'autre sont ainsi déterminés par l'emploi du papier imperméabilisé.

Les récipients sont répartis en trois séries (Schéma n° 1), où chaque bécher reçoit respectivement :

Série 1 : Cloison transversale constituée par une simple bande de gaze. Dans le compartiment inférieur, 25 cm^3 d'eau bidistillée.

Série 2 : Cavité compartimentée avec du papier imperméabilisé. Dans le compartiment inférieur, 25 cm^3 d'une émulsion aqueuse tweenée de S-gaïazulène à la concentration de 10^{-3}.

Série 3 : Cavité compartimentée avec du papier imperméabilisé. Dans le compartiment inférieur, de l'eau bidistillée. Reposant sur la membrane imperméable et en bordure de la paroi du récipient, du coton hydrophile imbibé d'émulsion aqueuse tweenée de S-gaïazulène à la concentration de 10^{-3}.

Chaque bécher reçoit deux plantules de Lupin ou de Haricot âgées de cinq jours. Les radicules sont introduites dans le compartiment inférieur en pratiquant, à travers les membranes, une ouverture permettant exactement leur passage jusqu'au collet.

Les cultures sont effectuées en demi-obscurité à la température de 22° (± 3°).

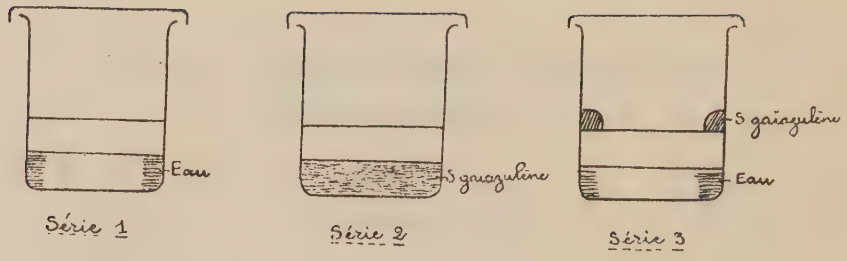


Schéma n° 1

a) **Observations macroscopiques**

Dès le premier jour de culture avec ce dispositif, et dans les jours suivants, nous avons constaté :

— dans les récipients de la série 1 (eau bidistillée seule) : le développement normal des plantules.

— dans les récipients de la série 2 (S-gaïazulène dans le compartiment inférieur) :

Compartiment inférieur,

une inhibition du développement des poils absorbants,
un allongement plus rapide des radicules,
un retard dans l'apparition des radicelles,
une coloration de la radicule, sauf à son extrémité.

Compartiment supérieur,

un comportement normal de la tigelle et des cotylédons,
un développement normal des radicelles qui, à cet étage, sont pourvus de poils absorbants (l'allongement en longueur des cellules provoque une surélévation du collet et permet l'apparition de radicelles dans ce compartiment).

— dans les récipients de la série 3 (eau bidistillée dans le compartiment inférieur, azulène dans le compartiment supérieur) :

Compartiment inférieur,

un développement normal des radicelles qui ne sont jamais colorées.

Compartiment supérieur,

La coloration en bleu des cotylédons, de la tigelle et de la radicule,

l'inhibition du développement de la tige et des poils absorbants des radicelles apparues à cet étage.

b) Observations microscopiques

Nous avons considéré, chez le Lupin et chez le Haricot, les aspects du tégument, de la tigelle et des radicules prélevées sur les cultures de S-gaïazulène à 10^{-3} et nous les avons comparés aux aspects des témoins.

α) Tégument.

Les cellules des assises externes renferment un dépôt de couleur bleue sombre.

β) Tigelle.

L'observation, à la loupe, de la tigelle révèle la présence de gouttelettes de S-gaïazulène dans les zones épidermiques et sous-épidermiques.

Examen de l'épiderme.

L'examen, au microscope, d'un lambeau d'épiderme montre la pénétration azulénique dans les cellules stomatiques, les cellules annexes des stomates et dans quelques autres cellules.

La localisation dans les stomates, très constante, chez le Lupin, est beaucoup moins fréquente dans le Haricot.

La tigelle de Haricot est revêtue de poils tecteurs bicellulaires, recourbés en crochet à leur extrémité, et de poils sécréteurs glanduleux.

La longueur des poils tecteurs est réduite de 50 % environ chez les sujets soumis à l'action du S-gaïazulène.

COUPE TRANSVERSALE D'UNE TIGE DE LUPIN

(Localisation du S-gaïazulène)

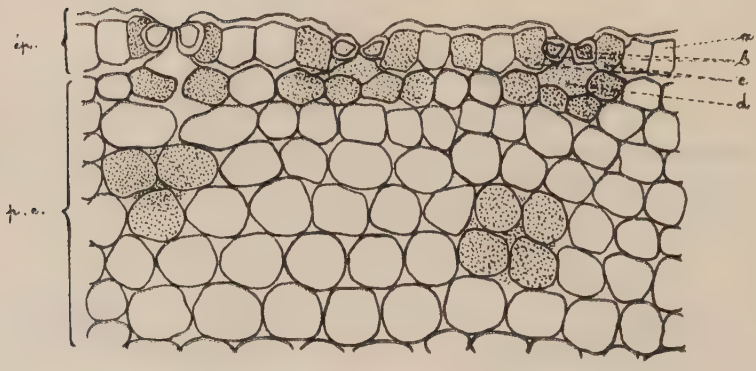


Figure n° 1

a) Cellule épidermique.
b) Cellules stomatiques.
c) Cellules annexes des stomates.
d) Chambre sous-stomatique.

Le pointillé signale la présence de S-gaïazulène.
ép. : épiderme.
p. c. : parenchyme cortical.

Examen de sections transversales (Fig. 1).

L'examen au microscope, de sections transversales, montre l'existence d'azulène dans les cellules stomatiques, dans les cellules annexes des stomates, dans la chambre sous-stomatique, dans les cellules situées en bordure de la chambre sous-stomatique, dans les espaces intercellulaires et dans des groupes de cellules appartenant à la couche parenchymateuse formée par les six assises de cellules les plus externes. Il semble qu'il y a diffusion à partir des chambres sous-stomatiques.

La cavité des vaisseaux de bois paraît bleue.

Des fragments de tiges sectionnées transversalement, nettoyés par l'hypochlorite de soude renferment encore, dans les cellules indiquées, du S-gaïazulène intracellulaire associé aux granulations cytoplasmiques.

Les vaisseaux lignifiés du bois de ces préparations sont fortement colorés en brun.

L'examen de coupes longitudinales confirme l'exactitude de ces observations.

δ) **Radicule.**

La fixation de l'azulène par la radicule est particulièrement intense dans les membranes des cellules de la zone subéreuse. La nature lipidique de la subérine et l'affinité des azulènes pour les corps gras suffiraient pour expliquer cette localisation.

Il est remarquable que les extrémités de radicules ne présentent jamais de coloration bleutée. Ces portions ne sont pas encore subérifiées.

La fixation de l'azulène par les tissus subérifiés se fait par contact direct avec le milieu renfermant l'hydrocarbure et non à la suite d'une migration, à partir de la tigelle, vers la radicule. Nous avons contrôlé ce fait par les expériences et les observations suivantes :

α) Des échantillons à radicule blanche et à tigelle et cotylédons bleuis par le S-gaïazulène sont transportés dans un milieu constitué par de l'eau bidistillée pure. Après trois ou

quatre jours, la tigelle perd presque complètement la couleur acquise, mais la radicule ne bleuit pas.

β) Dans les expériences faites en béchers compartimentés, le bleuissement de la radicule ne s'observe qu'à l'étage renfermant du S-gaïazulène.

Les vaisseaux lignifiés du bois sont fortement colorés en brun après nettoyage des fragments par l'hypochlorite de soude.

L'examen de coupes longitudinales confirme l'exactitude de ces observations.

* * *

Il n'est pas sans intérêt de rapprocher les observations microscopiques effectuées sur la localisation du S-gaïazulène des caractères physiques propres à cet hydrocarbure. On pourrait penser qu'en raison de son point d'ébullition élevé, le S-gaïazulène ne puisse intervenir dans les échanges au niveau des stomates; en réalité, dès la température ordinaire, la tension de vapeur des azulènes est élevée. Constituants naturels de nombreuses essences végétales, dans lesquelles ils existent, soit déjà formés ou soit à l'état de précurseurs chimiquement très voisins (ainsi que nous l'avons déjà signalé), les azulènes sont éminemment entraînables à la vapeur d'eau. Ce sont donc des corps très diffusibles et il est normal qu'ils participent aux échanges que le végétal réalise en phase vapeur.

La pénétration du S-gaïazulène pose par contre un problème de physiologie végétale des plus interessants. Si l'élimination de substances, à point d'ébullition élevé mais à tension de vapeur appréciable à la température ordinaire, telle la nicotine, a pu être observée, par contre, à notre connaissance, l'absorption par les stomates n'avait été démontrée, jusqu'à présent, que pour un nombre restreint de substances organiques, à point d'ébullition relativement bas, tels les anesthésiques généraux, comme l'éther ou le chloroforme.

La volatilité du S-gaïazulène est comparable à celle de l'éther et du chloroforme, bien que d'un moindre degré, mais un second point commun entre le S-gaïazulène et les anesthésiques généraux volatils, sur le plan physico-chimique, doit être signalé : c'est leur liposolubilité. Le fait que la chambre sous-stomatique ait le même comportement que les cou-

ches à subérine permet de penser que la liposolubilité a pu jouer un rôle important dans les phénomènes que nous avons observés : la tension de vapeur a permis, au S-gaïazulène, d'atteindre la chambre sous-stomatique, puis sa liposolubilité aurait permis sa pénétration au sein des tissus.

Cette observation de la pénétration transtomatique d'une grosse molécule, de masse moléculaire égale à 198 (soit 2,5 fois la masse moléculaire de l'éther, 4,7 fois celle du cyclopropane, 7,6 fois celle de l'acétylène) est significative de l'importance des stomates dans le chimisme de l'organisme végétal. Elle témoigne par ailleurs du comportement privilégié au point de vue biologique des substances constitutives des essences; que ces substances soient acycliques ou cycliques, terpéniques vraies ou non terpéniques, leurs caractéristiques fondamentales, liposolubilité et forte tension de vapeur à basse température, leur confèrent des possibilités particulières : le S-gaïazulène n'échappe pas à cette règle très générale, mais par son intense coloration bleue, révélatrice de sa présence aux très grandes dilutions, il offre un intérêt exceptionnel même dans les domaines d'investigation les plus délicats.

D) MECANISME DE L'ACTION DU S-GAIAZULENE SUR L'ALLONGEMENT DES AXES

Nous avons procédé, comparativement aux témoins, à des numérations et à des mensurations des cellules de la tigelle et des cellules de la radicule du Lupin et du Haricot affectés par la présence de S-gaïazulène titrant 10^{-3} dans les milieux de culture. Nos résultats semblent montrer que l'inhibition de l'allongement des tigelles résulte, non d'un arrêt des mitoses, mais d'un développement incomplet des membranes cellulaires, dont la longueur moyenne est réduite à 25 % de celle des témoins.

Les cellules ne sont cependant guère atteintes dans leur diamètre qui garde à peu près la même valeur que celle reconnue aux témoins.

3° ACTION DU S-GAIAZULENE SUR LA RACINE ISOLEE DE RADIS CULTIVEE EN MILIEU NUTRITIF LIQUIDE, TWEENE ET STERILE

Le passage du S-gaïazulène, à l'état de vapeur par la voie des stomates, ayant été démontré au cours des expériences que nous avons décrites, il fallait encore voir, si son absorption à l'état liquide se fait par la racine et si les effets déjà observés sur la radicule se reproduisent quand l'organe est cultivé isolément.

Nos essais ont été conduits d'après la technique de R. GAUTHERET (31), modifiée comme suit :

Mode opératoire

La culture de racines isolées, en milieu stérile, n'est possible qu'avec des organes prélevés sur des plantules stériles, c'est-à-dire dont le développement, depuis la germination, s'est effectué aseptiquement. Toute autre méthode qui ne s'assurerait pas de la stérilité parfaite du milieu de culture, dès l'ensemencement, conduirait à des résultats déplorables.

L'ensemble des manipulations nécessaires à l'obtention de cultures satisfaisantes comporte donc :

1° la préparation de plantules dont la germination et le développement ont été conduits en milieu aseptique,

2° le prélèvement et la répartition des radicules en milieu aseptique, en évitant la souillure des organes par les micro-organismes ou les spores de Cryptogames.

A) CULTURE DES SEMENCES EN MILIEUX ASEPTIQUES

A moins d'avoir été prélevées avec toutes les précautions utiles dans le fruit où elles se sont formées, les semences sont

toujours contaminées de germes divers qui, mis dans un milieu humide et tiède, évolueront avec les graines. La stérilisation de celles-ci est donc la première opération qui s'impose.

Le procédé à l'hypochlorite de calcium, que nous avons choisi, entre autres, est de réalisation facile et peu agressif. Il ne nuit pas au pouvoir germinatif des semences. Voici le détail des manipulations :

Préparation de la solution d'hypochlorite :

35 g. de chlorure de chaux, titrant 200° chlorométriques, sont dissous dans 1 litre d'eau. Après agitation d'une durée de dix minutes, on filtre et recueille un liquide qui doit être incolore ou à peine teinté de jaune.

Stérilisation des semences

Les semences, placées dans un récipient, sont recouvertes de la solution d'hypochlorite et abandonnées pendant trente minutes à froid. Sitôt retirées du bain d'hypochlorite, elles sont disposées à l'aide d'un matériel aseptique, dans les boîtes de Pétri préparées pour la germination. Aucun lavage n'est nécessaire pour les débarrasser de l'hypochlorite de Ca qui les imprègne, car ce sel se détruit rapidement.

Les boîtes de Pétri, où s'effectueront les premiers stades du développement des plantules, ont été garnies de coton hydrophile revêtu d'un disque de papier Joseph lavé. Le tout a été imbibé d'eau et stérilisé à l'autoclave.

Prélèvement et répartition des radicules dans les milieux de culture

Les plantules, dont le développement sera suivi, doivent faire l'objet d'une sélection extrêmement sévère, afin de constituer des lots aussi homogènes que possible.

Toutes les plantules appartenant à une boîte souillée doivent être rejetées. Le choix portera sur les échantillons dont les radicules mesurent de 1,5 à 2 cm. et paraissent également saines et vigoureuses. L'on isole de chaque radicule choisie

un fragment mesurant 1 cm environ à partir de l'extrémité.

Les cultures sont effectuées dans 25 cc. de milieu II de White, modifié et stérilisé, dans des tubes en verre dur d'une longueur de 22 cm. et d'un diamètre de 22 mm. Les radicules sont portées par une baguette de verre recourbée en anneau à son extrémité et maintenue à un niveau convenable par la bourre épaisse qui obture le tube. Le milieu nutritif répond à la formule :

Eau bidistillée dans du Pyrex	1 litre
Nitrate de calcium	0,142 g.
Sulfate de magnésium	0,073 g.
Nitrate de potassium	0,081 g.
Chlorure de potassium	0,065 g.
Phosphate monopotassique	0,0125 g.
Sulfate ferrique	0,0025 g.
Saccharose	20 g.
Vitamine B_1	0,0001 g.
Vitamine B_6	0,0004 g.
Acide nicotinique	0,004 g.

L'introduction, à la place de la levure de bière, des vitamines B_1 et B_6 et de l'acide nicotinique, qui rapprochent notre milieu de celui de BONNER et DEVIRIAN (31), a permis un accroissement des racines plus régulier qu'avec le milieu de WHITE.

Les cultures sont effectuées à la température de 22°. Les milieux infectés sont éliminés des lots.

La longueur des racines est mesurée tous les deux jours, jusqu'au vingtième au moins, selon le comportement individuel de chaque élément. De nombreux auteurs ont, en effet, signalé des variations de vitesse d'allongement, demeurées inexpliquées.

Pour chacune des racines, on évalue le taux de croissance donné par la formule :

$$T = \frac{Ln - L}{L} \times 100 \quad (28)$$

où

T = taux de croissance

Ln = longueur de la racine au $n^{ième}$ jour de culture

L = longueur initiale de la racine

B) ACTION DU TWEEN 20

Comme au cours des essais précédents, nous avons déterminé les effets propres du tween 20 sur la culture. Nous avons constaté que cette substance exerce régulièrement une action inhibitrice sur le développement de la radicule de Radis, dès la concentration de 10^{-4}. Elle se montre très souvent déjà active à la concentration de 10^{-5}.

Sa présence, dans les milieux de culture, ne modifie pas les caractères des poils absorbants.

C) ACTION DU S-GAIAZULENE

En raison du pouvoir inhibiteur du tween 20, nous avons réduit au minimum le pourcentage de ce corps dans nos émulsions. Chaque milieu liquide avait une teneur en tween 20 deux fois moins élevée qu'en S-gaïazulène. Nous n'avons pas constaté la présence d'azulène libre, rassemblé en surface, après préparation des émulsions. Les titres des milieux de culture en produits actifs correspondaient aux valeurs suivantes :

α)	S-gaïazulène	10^{-7}
	Tween 20	5.10^{-8}
δ)	S-gaïazulène	10^{-6}
	Tween 20	5.10^{-7}
ε)	S-gaïazulène	10^{-5}
	Tween 20	5.10^{-6}

La stérilisation des milieux a été faite à l'autoclave pendant 30 minutes à température inférieure à 100°, deux fois à deux jours d'intervalle. Elle a provoqué une perte en azulène qu'il convient de signaler, sans qu'il soit cependant nécessaire de modifier notablement la valeur des titres indiqués ci-dessus. Nous avons préféré procéder par ce mode de stérilisation en raison des nombreux risques de souillure que comporterait une distribution supplémentaire dans les tubes stériles.

Il ressort, de nos mensurations et de nos calculs, que la croissance des radicules est inhibée dans les tubes renfer-

mant le tween 20 aux concentrations actives. Cet effet cache l'action propre de l'azulène au cas où elle existerait. Cependant, une inhibition particulièrement importante et seulement imputable à ce produit se manifeste, dès le sixième jour, pour la concentration de 10^{-5}. Nous notons, en outre, que les organes cultivés en présence d'azulène sont plus grêles que les témoins cultivés en milieux tweenés ou non.

TABLEAU N° 10

Moyenne des taux de croissance des racines, en fonction de la concentration en S-gaïazulène et en Tween 20 des milieux de culture (mesures faites au vingt-huitième jour).

CONCENTRATIONS EN :		Moyenne des taux de croissance en :		
S-gaïazulène	Tween 20	0 (témoin)	Tween 20	S-gaïazulène + Tween 20
0 (témoin)	0 (témoin)	931		
10^{-7}	5.10^{-5}			950
10^{-6}	5.10^{-7}			883
	10^{-6}		843	
10^{-5}	5.10^{-6}			655
	10^{-5}		817	
	10^{-4}		455	

L'action du S-gaïazulène sur le développement des poils absorbants est, par contre, extrêmement nette dès la concentration de 10^{-5}. Les racines baignant dans les émulsions de ce titre sont à peu près complètement dépourvues de système pilifère. En même temps que cette inhibition, l'on observe un retard considérable à l'apparition des radicelles, par rapport aux témoins, tweenés ou non, qui sont déjà revêtus d'un abondant chevelu.

Le S-gaïazulène possède donc un pouvoir inhibiteur sur la croissance des différents éléments de la racine de Radis cultivée isolément, en milieu stérile, pendant 28 jours. Cette action montre que l'absorption du produit toxique se fait aussi par la radicule.

II

Action du S-gaïazulène sur *Lemna Minor* (L.) (Lemnacées) à complet développement

Pour être complète, l'étude de l'influence du S-gaïazulène sur les Phanérogames appelle nécessairement une expérimentation sur le végétal à l'état adulte; malheureusement la rareté des azulènes purs et leur cherté excluent toute possibilité de suivre, au laboratoire, les effets du produit sur l'une quelconque des espèces déjà envisagées pendant son cycle évolutif entier. Le choix du matériel expérimental, dicté par la pénurie en S-gaïazulène, se trouve donc très limité.

Parmi les plantes susceptibles de nous permettre de suivre les effets des substances actives, les espèces appartenant au genre **Lemna** ont déjà été fréquemment utilisées. Nous devons à FROMM (30) une étude détaillée des conditions expérimentales de culture de **Lemna minor** L., à partir de laquelle il est possible de procéder à la détermination rapide de la toxicité d'une substance sur le végétal supérieur.

Cette espèce constitue, en effet, un matériel intéressant en raison de l'exiguité de ses dimensions et de la rapidité de son évolution. Nous l'avons soumise à l'action du S-gaïazulène en milieu nutritif tweené et nous avons suivi parallèlement le comportement du plant en milieu nutritif tweené et en milieu nutritif pur.

Les solutions nutritives étaient constituées par :

Milieu de Knop au $^1/_2$ (*)	1 litre
Solution de Berthelot (**)	X gouttes

(*) Milieu de Knop au $^1/_2$: Eau distillée dans le Pyrex 1.000 cm^3; Nitrate de Ca 0,50 g.; Nitrate de potassium 0.125 g.; Sulfate de magnésium 0,125 g.; Phosphate monopotassique 0,125 g.

(**) Solution de Berthelot : Eau 1.000 cc.; Sulfate ferrique 50 g.; Sulfate de manganèse 2 g.; Iodure de potassium 0,5 g.; Chlorure de nickel 0,05 g.; Chlorure de cobalt 0,05 g.; Sulfate de titane 0,20 g.; Sulfate de zinc 0,10 g.; sulfate de cuivre 0,05 g.; Sulfate de glucinium 0,10 g.; Acide borique 0,05 g.; Acide sulfurique à 66° Baumé 1 cm^3.

Mode opératoire

Des cristallisoirs d'une contenance de 500 cc. sont répartis en deux lots de 8 unités.

Chaque unité du premier lot reçoit respectivement 200 cc. de solution nutritive titrant en tween 20 :

10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} et 10^{-3}.

Chaque unité du deuxième lot reçoit respectivement 200 cc. de milieu nutritif contenant des quantités égales de tween 20 et de S-gaïazulène aux titres de :

10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4} et 10^{-3}.

Un cristallisoir unique reçoit 200 cc. du milieu nutritif.

Des plants de Lentille d'eau, maintenus depuis quinze jours au laboratoire dans le milieu nutritif, sont répartis dans chaque cristallisoir qui en reçoit 15. On place les cristallisoirs sous cloche en pleine lumière à la température du laboratoire (18-20°). Tous les individus mis en culture possèdent deux frondes bien développées.

L'on suit l'évolution des plants, l'on en compte les frondes quotidiennement et l'on suit, au microscope, la fixation de l'azulène.

ACTION DU TWEEN 20

Le tween 20 ne modifie pas sensiblement la multiplication des frondes de Lentille d'eau pour les concentrations égales ou inférieures à 10^{-4}. A la concentration de 10^{-3}, on note une inhibition atteignant une valeur moyenne de — 14 %.

ACTION DU S-GAIAZULENE

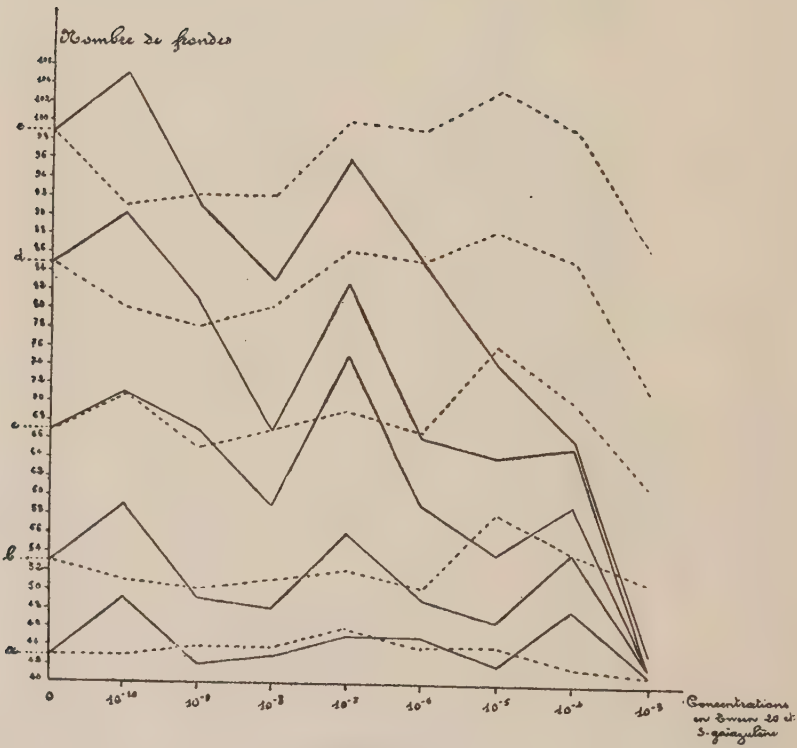
Le S-gaïazulène inhibe déjà nettement l'accroissement du nombre des frondes de Lentille d'eau dès la concentration de 10^{-6}. Dans les conditions de notre expérience, l'action inhibitrice est maxima dans les milieux titrant 10^{-5} en produit actif. L'effet observé résulte, évidemment, des actions propres du tween 20 et du S-gaïazulène. (Tableau n° 11 et graphique n° 4).

ACTION DU TWEEN 20 ET DU S-GAIAZULENE SUR *LEMNA MINOR* L.

TABLEAU N° 11

NOMBRE DE FRONDES AU DEPART DE CHAQUE ESSAI : 40

Concentrations	ACCROISSEMENT DU NOMBRE DES FRONDES														
	Témoin après :					Tween 20 après :					Tween 20 et S-gaïazulène après :				
	3 j.	6 j.	9 j.	12 j.	15 j.	3 j.	6 j.	9 j.	12 j.	15 j.	3 j.	6 j.	9 j.	12 j.	15 j.
0	43	53	67	85	99										
10^{-10}						43	51	69	80	91	49	59	71	90	105
10^{-9}						44	50	65	78	92	42	49	67	81	91
10^{-8}						44	51	67	80	92	43	48	59	67	83
10^{-7}						46	52	69	86	100	45	56	75	83	96
10^{-6}						44	50	67	85	99	45	49	59	66	85
10^{-5}						44	58	76	88	103	42	47	54	64	72
10^{-4}						42	54	70	85	99	48	54	59	65	66
10^{-3}						41	51	61	71	86	41	42	42	42	43



GRAPHIQUE N° 4

Les courbes en a, b, c, d et e traduisent les variations du nombre des feuilles, respectivement aux 3e, 6e, 9e, 12e et 15e jours.

——— En présence de S-gaïazulène.

- - - - En présence de Tween 20.

Nous avons remarqué que la séparation des frondes chez une même plante, est empêchée par la présence de S-gaïazulène titrant au moins 10^{-4}, dans le milieu de culture. Cet effet n'est pas imputable au tween, comme en témoigne le tableau n° 12.

TABLEAU N° 12

Nombre de groupes de feuilles de *Lemna minor* L. au treizième jour de croissance, en présence de Tween 20 et de S-gaïazulène.

Concentrations	Témoin	Tween 20	Tween 20 et S-gaïazulène
0	30		
10^{-10}		36	32
10^{-9}		34	28
10^{-8}		28	29
10^{-7}		30	31
10^{-6}		27	34
10^{-5}		29	23
10^{-4}		43	15
10^{-3}		21	16

III

Conclusions

Nous avons étudié l'action du S-gaïazulène.

— sur la germination et le développement des plantules; de trois Monocotylédones :

le Poireau, *Allium porrum* (L.)	Liliacées
l'Oignon, *Allium cepa* (L.)	Liliacées
le Ray grass, *Lolium perenne* (L.)	Graminées

et de six Dicotylédones :

le Navet, *Brassica Napus var. esculenta* (D. C.)	Crucifères
le Colza, *Brassica Napus var. oleifera* (D. C.)	Crucifères
la Moutarde blanche, *Sinapis alba* (L.)	Crucifères
la Luzerne, *Medicago sativa* (L.)	Papilionacées
le Lin, *Linum usitatissimum* (L.)	Linacées
la Laitue, *Lactuca sativa* (L.)	Composées

— sur le développement de la racine isolée de Radis, *Raphanus sativus* (L.) cultivée en milieu nutritif aseptique;

— sur la Lentille d'eau *Lemna minor* (L.) à complet développement.

Au cours de cette étude, nous avons dû utiliser des émulsions de S-gaïazulène tweenées, ce qui a nécessité la détermination de l'action propre des tweens 20 et 80 aux dilutions correspondantes.

A) ACTION DES TWEENS

a) Action du tween 20 et du tween 80 sur la germination et le développement des jeunes plantules.

Les solutions de tween 20 et de tween 80 n'affectent pas la germination des espèces étudiées pour toute concentration inférieure à 10^{-2}.

Le développement des tigelles, des radicules, des radicelles et des poils absorbants n'est pas influencé pour ces faibles concentrations.

b) **Action du tween 20 sur la croissance des radicules isolées de Radis cultivées en milieu stérile.**

Nous avons montré que la croissance en longueur des radicules est inhibée pour toute concentration supérieure à 10^{-6}. Nous n'avons pas constaté d'action inhibitrice sur l'allongement des radicelles et des poils absorbants.

B) ACTION DU S-GAIAZULENE

a) Action du S-gaïazulène sur la germination des semences

Nous avons suivi le développement des semences étudiées, soumises à l'action du S-gaïazulène. Nous avons signalé que la Luzerne pour les concentrations comprises entre 10^{-6} et 10^{-3}, et la Laitue pour la concentration de 10^{-6} paraissent être légèrement stimulées et que le Lupin subit une inhibition atteignant une valeur de 30 % par rapport aux témoins, dès la concentration de 10^{-3}. Les autres espèces se sont montrées indifférentes.

b) Action du S-gaïazulène sur le développement des plantules

Nous avons été amené à considérer :
— l'action sur la tigelle,
— l'action sur la radicule.

α) **Tigelle.**

Nous avons démontré, grâce à différentes techniques de culture, que le S-gaïazulène réduit l'allongement de la tigelle de toutes les espèces étudiées. La valeur moyenne de cet allongement atteint — 40 à — 60 % par rapport aux témoins.

Le pouvoir inhibiteur du produit s'exerce sur les processus d'accroissement en longueur des membranes cellulaires dont les dimensions sont réduites dans les mêmes propor-

tions que celles des tiges, par rapport aux témoins. La croissance des poils tecteurs est également affectée dans le cas du Haricot que nous avons seul pu envisager.

β) **Radicule.**

Nos essais en boîte de Pétri nous ont permis de constater le comportement différent des Monocotylédones et des Dicotylédones en présence de S-gaïazulène.

L'allongement des radicules de Poireau, d'Oignon et de Ray-grass a été inhibé, au quatrième jour de croissance, dans la proportion moyenne de — 19 à — 45 % par rapport aux témoins, dans les milieux titrant 10^{-5} en produit actif.

Au contraire, dans les mêmes conditions expérimentales, la croissance des radicules des Dicotylédones est stimulée et la valeur moyenne de l'allongement atteint 15 à 20 % par rapport aux témoins.

Les cultures de racines isolées n'ont pas permis de préciser ce fait, en raison de la présence inévitable de doses inhibitrices de tween dans les milieux nutritifs. Cependant, les racines sont plus grêles, quel que soit le mode d'investigation adopté, et le développement des radicelles est gravement affecté chez l'organe isolé mis en milieu titrant au moins 10^{-5} en S-gaïazulène.

Nous avons montré que le S-gaïazulène inhibe toujours l'évolution des poils absorbants, dès la concentration de 10^{-5}.

c) **Absorption du S-gaïazulène**

Un dispositif, permettant de cultiver les plantules en isolant la tige ou la radicule du milieu chargé en S-gaïazulène, nous permet d'affirmer que le S-gaïazulène est absorbé à l'état de vapeurs, par les stomates. Les quantités du produit absorbé par cette voie suffisent pour exercer les effets constatés. Il ressort, en outre, de nos constatations que l'action inhibitrice sur le développement de la tigelle n'est possible que par action directe du S-gaïazulène sur cet organe et que, par ailleurs, l'inhibition des poils absorbants se produit quand la radicule est au contact des vapeurs de l'hydrocarbure.

L'absorption du S-gaïazulène par la radicule est démontrée par l'effet inhibiteur que cette substance exerce sur la croissance des radicelles de racine isolée cultivée en milieu nutritif stérile.

d) Localisation du S-gaïazulène

La localisation du S-gaïazulène a été étudiée dans la tigelle et dans la radicule. Nous avons pu constater la présence du produit dans ces organes aux niveaux ci-après :

α) **Tigelle.**

Dans les cellules annexes des stomates,
dans les cellules épidermiques banales,
dans la chambre sous-stomatique,
dans les espaces intercellulaires,
dans les cellules du parenchyme cortical, appartenant aux six assises les plus externes,
dans les vaisseaux lignifiés du bois.

β) **Radicule.**

Dans les membranes des cellules subérifiées,
dans les vaisseaux du bois.

La présence de S-gaïazulène dans les vaisseaux du bois témoigne de la profondeur de la pénétration de ce corps qui franchit toutes les barrières de protection du cylindre central.

e) Action sur la Lentille d'eau.

Nous avons montré que le tween 20 exerce une action inhibitrice sur l'accroissement du nombre de feuilles de Lentille d'eau dès la concentration de 10^{-3}. Le S-gaïazulène, en solution tweenée, renforce cette action qui s'exerce déjà notablement à la concentration de 10^{-5}.

Enfin, la présence de S-gaïazulène, dès la concentration de 10^{-4} dans le milieu de culture, arrête brutalement la reproduction asexuée de la Lentille d'eau par inhibition de la séparation des feuilles.

EFFETS DU S-GAIAZULENE SUR LES ANIMAUX

I. RECHERCHES SUR LE POISSON.

II. RECHERCHES SUR LA SOURIS BLANCHE.

III. RECHERCHES SUR LE CHIEN.

IV. ETUDES PHARMACODYNAMIQUES SUR ORGANES ISOLES.

V. APPLICATIONS THERAPEUTIQUES DES PREPARATIONS A BASE D'AZULENE.

1. — RECHERCHES SUR LE POISSON

TOXICITE VIS-A-VIS DE LA PERCHE JAPONAISE

(*Pomotis gibbosus* L. Centrarchidés)

Dans la classe des Poissons, l'espèce choisie pour étudier la toxicité du S-gaïazulène a été la Perche japonaise.

Quatre-vingt-douze sujets sélectionnés mesurant environ 20 mm. (± 2) de longueur ont été répartis en lots homogènes.

Mode opératoire

Dans des critallisoirs de 750 cc. de capacité, on place 250 cc. soit de solution aqueuse de tween 20 ou 80 de concentration comprise entre 5.10^{-5} et 5.10^{-6}, soit des émulsions de S-gaïazulène titrées de 10^{-7} à 10^{-4} dans des solutions aqueuses de tween 20 ou 80 de concentration comprise de 5.10^{-9} à 5.10^{-6}.

Les poissons sont introduits dans le liquide et l'heure exacte de cet acte est notée. L'on suit les effets toxiques jusqu'à la mort des sujets. L'expérience est considérée comme terminée quand l'animal, reposant sur le fond, couché sur le flanc et immobile, cesse définitivement d'agiter ses ouïes. Ce moment est noté avec exactitude.

Les essais sont réalisés à la température de 22° (± 2°).

TOXICITE DES TWEENS 20 ET 80

Vingt Perches japonaises mesurant environ 20 mm. (± 2) de longueur et d'un poids moyen de 0,60 gr. environ, ont été soumises à l'action de solutions aqueuses titrant jusqu'à 10^{-3} en tween 20 ou en tween 80. Tous les animaux ont survécu normalement aux essais d'une durée de cinq heures.

TOXICITE DU S-GAIAZULENE

Les premiers signes de l'intoxication se manifestent par un besoin d'oxygénation, qui amène le Poisson en surface et l'y maintient la gueule ouverte. L'animal tourne en rond et

ne tarde pas à présenter des signes de fatigue. Il se laisse descendre au fond du cristallisoir, puis remonte vivement, s'agite, fait des bonds désordonnés qui le projettent parfois hors de l'eau.

Des signes de déséquilibre se manifestent bientôt. L'animal nage sur le flanc ou complètement retourné sur le dos. Il se maintient de plus en plus difficilement en surface. Ses chutes sont suivies d'arrêts de plus en plus prolongés, en profondeur. Son déséquilibre devient complet, tous les déplacements sont effectués sur le dos et enfin l'immobilisation définitive survient.

Doses toxiques

Le S-gaïazulène s'est montré toxique, dès la concentration de 10^{-6}, pour les Perches d'un poids voisin de 0,60 gr. A cette dose, l'intoxication est mortelle en deux à cinq heures.

La concentration de 4.10^{-6} a toujours été mortelle en 1 heure 30 à 2 heures. Ce temps est réduit à quatorze minutes pour la concentration de 10^{-5}.

Avec des concentrations atteignant 10^{-4}, les animaux ont tous succombé en huit minutes au maximum.

Le tableau ci-après indique, avec les durées des expériences, les pourcentages de mortalité.

TABLEAU N° 13

Concentration en S-gaïazulène	Durée de l'intoxication	Pourcentage de mort	Pourcentage de survie
10^{-7}	5 h.	0	100
10^{-6}	2 h. à 5 h.	25	75
2.10^{-6}	2 h.	60	40
4.10^{-6}	90 à 120 m.	100	0
5.10^{-6}	65 m.	100	0
6.10^{-6}	49 m.	100	0
10^{-5}	37 m.	100	0
5.10^{-5}	14 m.	100	0
10^{-4}	8 m.	100	0

De ces résultats, il est permis de dégager les conclusions suivantes valables pour la Perche japonaise, en milieu azulénique à 5.10^{-5} et tweené (20 ou 80) :

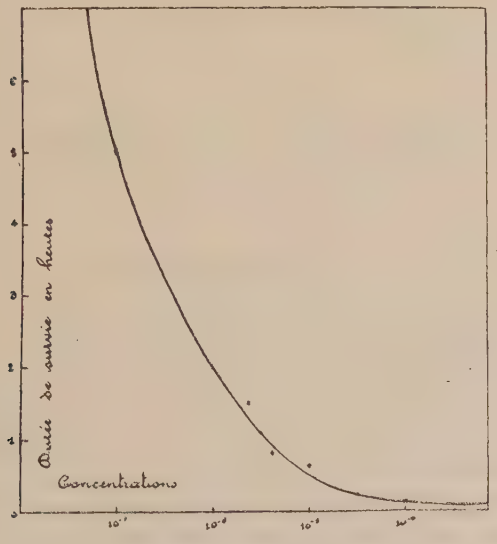
1° Les concentrations en S-gaïazulène au plus égales à 10^{-7} sont très bien tolérées pendant au moins cinq heures.

2° Des concentrations de l'ordre de 10^{-6} à 4.10^{-6} déterminent, en deux heures environ, des pourcentages de mortalité allant croissant jusqu'à 100 %.

3° Pour des concentrations égales ou supérieures à 4.10^{-6} les pourcentages de mortalité égaux à 100 % sont atteints en des temps de plus en plus réduits. Des concentrations de l'ordre de 10^{-4} sont mortelles en huit minutes.

La courbe de Schakell de l'intoxication affecte le tracé reproduit par le graphique n° 6.

COURBE DE TOXICITE DU S-GAIAZULENE VIS-A-VIS DE LA PERCHE JAPONAISE



Graphique n° 6

II. — RECHERCHES SUR LA SOURIS BLANCHE

Nous avons soumis des lots de souris blanches, d'un poids moyen de 20 gr., à l'action de solutions huileuses de S-gaïazulène, répondant à la formule :

S-gaïazulène ..... } à parties égales
Huile d'olive neutralisée ..... }

TOXICITE DE L'HUILE D'OLIVE NEUTRALISEE

Nous avons vérifié que l'huile d'olive neutralisée, administrée par voie intrapéritonéale n'a pas d'action nocive sur la souris blanche, à la dose de 10 g. par kilog, et que, administrée par voie intraveineuse, elle ne provoque pas la mort immédiate du sujet.

TOXICITE DU S-GAIAZULENE

VOIES D'INJECTION

a) Voie intraveineuse

L'injection de produits liquides, dans la veine caudale de la souris, ne présente guère de difficultés si l'on a, au préalable, chauffé la queue de l'animal dans de l'eau portée à la température de 50° environ. Après cette opération, les veines paraissent avec davantage de netteté et l'on y introduit facilement une aiguille pour injection hypodermique.

Toutes les injections de solution huileuse d'azulène, que nous avons effectuées par cette voie, ont rapidement été suivies de la mort de l'animal dès le passage des premières fractions du produit. La souris bleuit immédiatement, ses yeux deviennent d'un bleu foncé indiquant que le système circulatoire est encombré d'azulène. L'animal succombe immédiatement par embolie.

Nous avons donc été contraint d'employer la voie intrapéritonéale, qui détermine des actions plus lentes à se développer, mais toujours moins choquantes.

b) Voie intrapéritonéale

L'administration à la souris de doses toxiques, par voie intrapéritonéale, est suivie d'effets apparents dans les dix minutes qui succèdent à l'instant de l'injection.

Chez quelques animaux, il se manifeste rapidement une gène au niveau du bassin. La marche devient difficile du fait que les pattes postérieures, tendues en arrière, n'assurent plus le soutien de la région abdominale.

Des signes de fatigue ne tardent pas à paraître. Les sujets, groupés dans une même cage, s'entassent les uns sur les autres, comme pour se réchauffer. Leur pelage s'ébouriffe et une teinte bleutée se développe sur tout le corps, après la première heure d'intoxication.

Repliées sur elles-mêmes, les souris semblent dormir mais ne dorment pas. Elles refusent toute nourriture. Cinq heures plus tard environ, les parties découvertes du corps (oreilles, museau, pattes) prennent un teint blafard, comme si les animaux étaient gravement anémiés. Les paupières se gonflent et suppurent dans la plupart des cas mortels.

L'intoxication évolue vers la guérison ou vers la mort.

α) **Intoxication non mortelle.** — La perte d'appétit, accompagnée d'une chute du poids de l'animal, régresse très sensiblement après vingt-quatre ou quarante-huit heures. Peu à peu, les symptômes de l'intoxication s'atténuent et le retour à l'état normal s'effectue en quatre à cinq jours. La courbe pondérale des sujets rejoint un peu plus tard son niveau initial.

β) **Intoxication mortelle.** — La somnolence persiste. Certains animaux présentent des troubles de l'équilibre, ils roulent sur la surface qui les supporte et, tenus suspendus par la queue, ils sont encore animés d'un mouvement giratoire.

La respiration est progressivement ralentie et la mort survient après une agonie longue, parfois de plusieurs heures, et accompagnée de spasmes de la région thoracique.

L'autopsie, pratiquée régulièrement sur chaque cadavre, permet d'observer :

— une violente congestion du poumon, qui n'est jamais bleu ;

— une fixation de l'azulène dans tout le parenchyme adipeux.

Le cerveau, les poumons, le cœur, la rate, les reins et le foie, broyés séparément en présence d'éther de pétrole, ne cèdent pas d'azulène à ce solvant.

Doses mortelles

Le S-gaïazulène, en solution huileuse à 50 %, administré par la voie intrapéritonéale, a provoqué l'intoxication mortelle de la souris blanche dès la dose de 1,0 gr. par kilo. La mort survient, alors au bout de trois à quatre jours.

La voie d'injection choisie ne permet pas de sacrifier les animaux en des temps inférieurs à douze heures, même en administrant 5 gr. du toxique par kilo d'animal, comme l'indique le tableau n° 14.

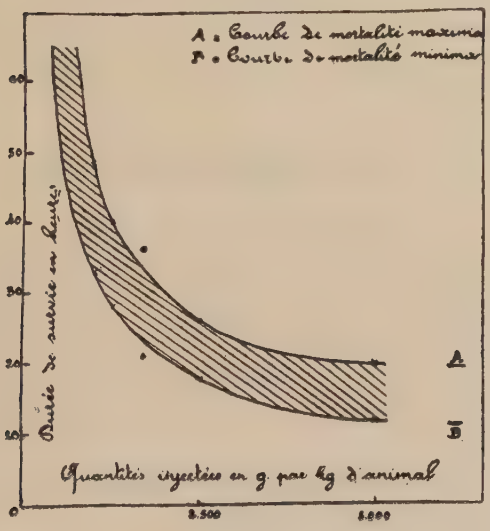
TABLEAU N° 14

DOSES TOXIQUES DU S-GAIAZULENE, EN FONCTION DU TEMPS
Injection intrapéritonéale

Quantités injectées par kg. d'animal	Nombre d'animaux en expérience	Période moyenne de survie en heures
0,725 g.	20	∞
1,000 g.	20	33 à 48
1,250 g.	15	28 à 40
1,666 g.	10	21 à 36
2,500 g.	20	18 à 26
5,000 g.	8	12 à 20

Le graphique n° 7 permet de confronter les durées de survie et les doses injectées par kilog d'animal.

COURBE DE TOXICITE DU S-GAIAZULENE VIS-A-VIS DE LA SOURIS BLANCHE



Graphique n° 7

A : Courbe de survie maxima en fonction des doses mortelles injectées.

B : Courbe de survie minima en fonction des doses mortelles injectées.

III. — RECHERCHES SUR LE CHIEN

Nos expériences ont été réalisées sur l'animal anesthésié au chloralose, à la dose de 0,10 g. par kilog.

Nous avons suivi les effets du S-gaïazulène sur l'appareil cardiovasculaire, l'appareil respiratoire, la motricité intestinale, la réflectivité neuro-végétative, la glycémie, l'urémie et la cholestérolémie.

1. — TECHNIQUES OPERATOIRES

a) Enregistrement de la pression

L'enregistrement de la pression a été assuré au moyen d'un kymographe de Ludwig, relié par un tube en caoutchouc, à une canule de F. Franck introduite soit dans le bout central de la carotide ou de l'artère fémorale (pression centrale), soit dans le bout périphérique de l'artère fémorale (pression périphérique).

Le liquide manométrique utilisé répondait à l'une ou l'autre des deux formules suivantes :

Formule n° 1 :

Sulfate de sodium.....	100 g.
Sulfate de magnésium.....	100 g.
Eau distillée q. s.	1.000 cm³

Formule n° 2 :

Sulfate de magnésium.....	260 g.
Eau distillée q. s.	1.000 cm³

b) Cœur in situ

La technique employée est celle dite du « cœur suspendu » qui nécessite la préparation suivante :

Le chien, placé sur le dos, est mis en respiration artificielle en s'assurant d'une bonne oxygénation. Une incision médiane, faite le long de la cage thoracique, permet de découvrir le sternum.

A l'aide du costotome, on pratique une ouverture en incisant le sternum sur toute sa longueur. Le cœur est ainsi mis à nu. Cette opération est très traumatisante mais elle peut être faite sans se soucier de l'hémostase, à condition de suivre fidèlement la ligne médiane. On évitera plus sûrement de cette façon la section des artères mammaires ou de leurs collatérales.

La cavité découverte est maintenue béante à l'aide d'un écarteur de Gosset. Le péricarde, incisé longitudinalement et fixé aux bords des parois thoraciques, constitue le « lit péricardique » sur lequel le cœur repose.

Une pince cardiaque est fixée à une oreillette et une autre à un ventricule. Les deux pinces sont reliées chacune, au moyen d'un fil, à un tambour manipulateur qu'un tuyau en caoutchouc met en relation avec un tambour inscripteur. On prend soin de maintenir la surface du cœur constamment humide par addition de sérum physiologique tiède.

La pression fémorale centrale est enregistrée simultanément.

c) Oncographie de la rate

L'abdomen est incisé le long de la ligne médiane, au-dessous du sternum, sur une longueur de 5 à 8 cm. La rate est extraite et deux ligatures, distantes de 2 cm. y sont posées, de manière à séparer une portion longue de 7 à 8 cm. D'autres ligatures, permettant la suppression de toute circulation sanguine dans l'autre portion qui sera excisée, sont ensuite faites. On procède alors à l'excision en s'assurant d'une bonne hémostase.

La portion restante est incluse dans un oncographe de Tournade, relié à un tambour inscripteur au moyen d'un tube en caoutchouc. Les modifications de volume de la rate sont ainsi enregistrées.

d) Enregistrement de la respiration

L'inscription des variations respiratoires a été faite en introduisant, dans la trachée de l'animal, une aiguille d'un calibre convenable, mise en relation avec un tambour inscripteur au moyen d'un tube en caoutchouc. L'inscription obte-

nue rend compte des modifications de pression dans les voies respiratoires et de la fréquence des mouvements.

e) **Enregistrement des mouvements intestinaux grêles**

L'animal est préparé comme suit :

Par une ouverture pratiquée sur la ligne médiane de l'abdomen, au-dessous de l'ombilic, on saisit une anse intestinale et on en sort une portion de la cavité abdominale. On l'incise longitudinalement sur 10 à 15 mm. de longueur. Par cette nouvelle ouverture, on introduit un tube en caoutchouc souple de 7 cm. de long environ, rempli d'eau et de calibre suffisant pour répondre par une déformation à toutes les pressions intestinales qui le sollicitent. Le tube est relié à un flacon, contenant de l'eau, par un tube de petit calibre, rempli d'eau. Le flacon est, lui-même, en relation avec un tambour inscripteur, au moyen d'un tube vide. Chaque variation du calibre de l'intestin provoque un déplacement de l'eau contenue dans le tube introduit dans l'anse intestinale. En conséquence, la répartition de l'air dans le système est modifiée, et les oscillations intestinales sont ainsi traduites par le stylet que porte le tambour inscripteur.

2. — RESULTATS

Nous avons considéré :

— les effets des doses non mortelles;
— les effets des doses mortelles.

A) EFFETS DES DOSES NON MORTELLES

L'injection intraveineuse de doses faibles de S-gaïazulène pur détermine régulièrement des effets tensionnels, cardiaques et respiratoires qui s'accompagnent, pendant un temps variable, d'une réduction de la fréquence du rythme cardiaque et de variations de la différentielle.

Des variations importantes de la motricité intestinale s'observent également.

a) Effets tensionnels :

L'injection intraveineuse de 0,10 gr. de S-gaïazulène pur par kilo d'animal est toujours rapidement suivie d'une hypotension atteignant une valeur moyenne de 2 cm. Hg., chez le sujet dont la pression centrale est d'environ 12 cm. Hg. (graph. 8). Cet effet persiste au moins pendant une heure trente et sa régression n'est pas toujours complète deux heures après l'injection.

L'accroissement de la différentielle, quand il se produit, est faible pour cette dose et son apparition parfois tardive (graph. 8).

La section des vagues et l'atropinisation retardent l'hypotension qui ne s'établit, alors, que progressivement, tandis que la valeur de la différentiellle tend à s'annuler (graph. 9 et 10).

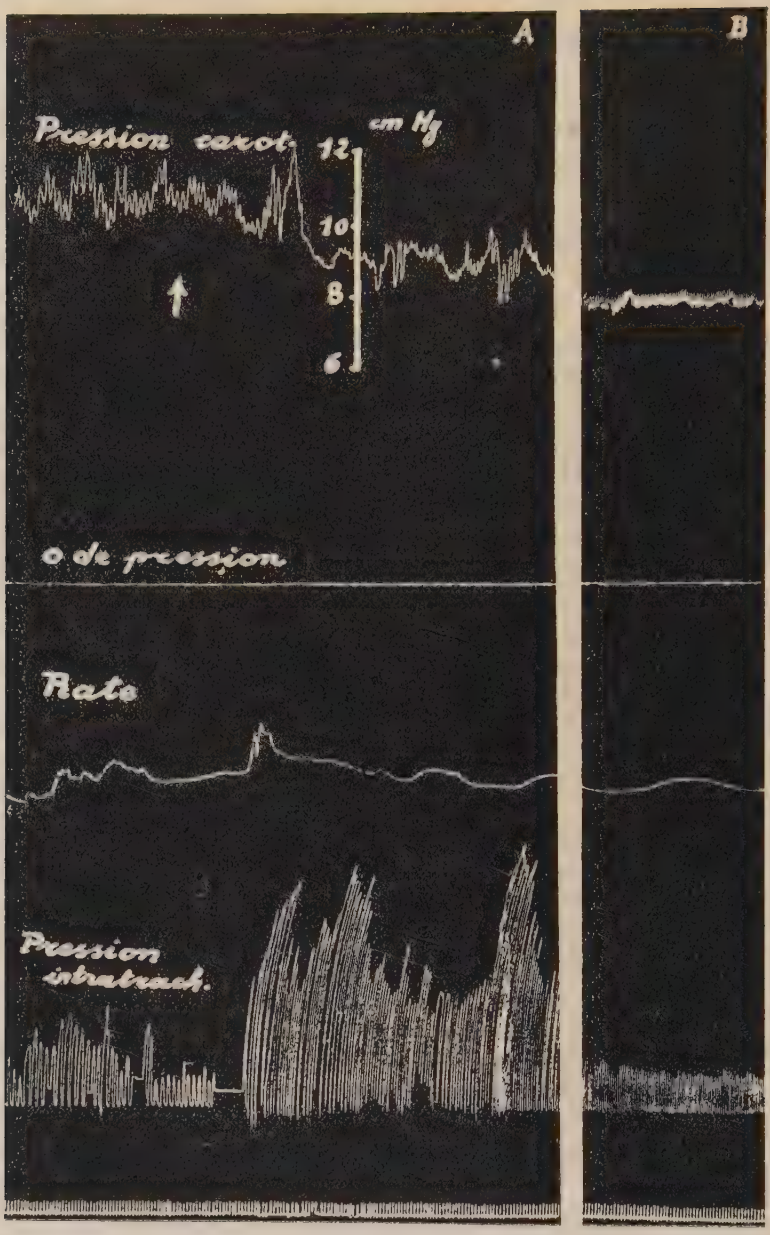
b) Effets cardiaques

L'administration d'une dose de 0,05 gr. de S-gaïazulène, par kilo d'animal, est suivie d'un ralentissement de la fréquence des contractions cardiaques, accompagné d'une diminution de l'amplitude des contractions auriculaires et ventriculaires, chez le sujet non vagotonique. La chute du tonus cardiaque est plus marquée pour l'oreillette que pour le ventricule (graph. 11).

On note, en même temps, une hypotension analogue à celle déjà signalée après administration du toxique.

La bradycardie et l'hypotension enregistrées persistent pendant au moins une heure trente, alors que le tonus de l'oreillette et celui du ventricule se rétablissent dans les trente ou quarante minutes qui suivent l'instant de leur modification.

Chez trois animaux, nous avons observé un renforcement des contractions ventriculaires.



Graphique n° 8

Chien pesant 5,500 kg.

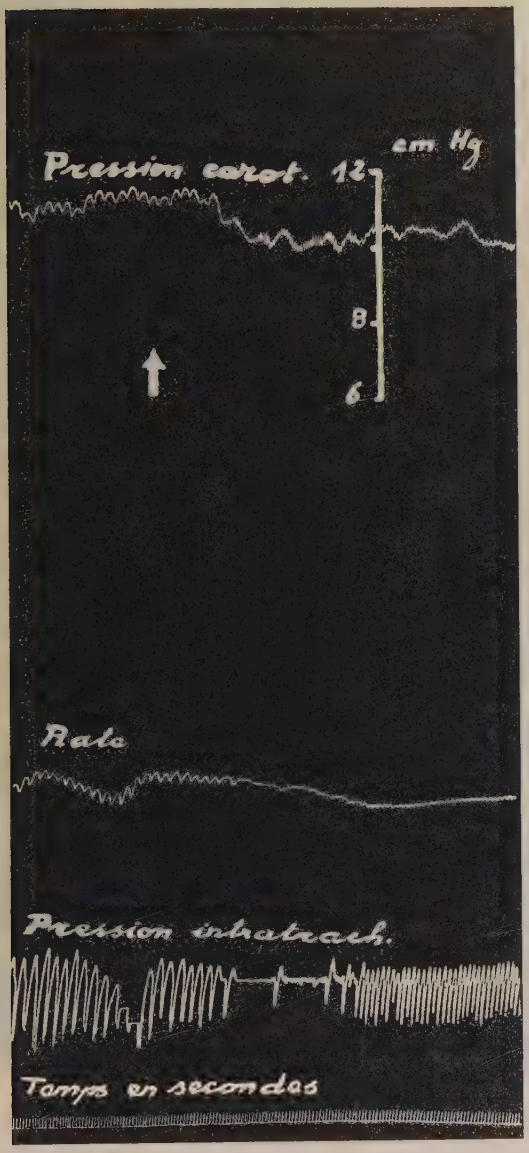
En ↑ : injection dans la saphène de 0,10 g. de S-gaïazulène par kilogramme.

En A : hypotension, ralentissement cardiaque (le pouls passe de 130 à 112), augmentation de la différentielle. Inhibition des mouvements de la rate. Apnée passagère suivie de polypnée.

Entre A et B : 2 minutes.

En B : Légère augmentation de la différentielle. La polypnée s'est accrue.

AVANT SECTION DES VAGUES

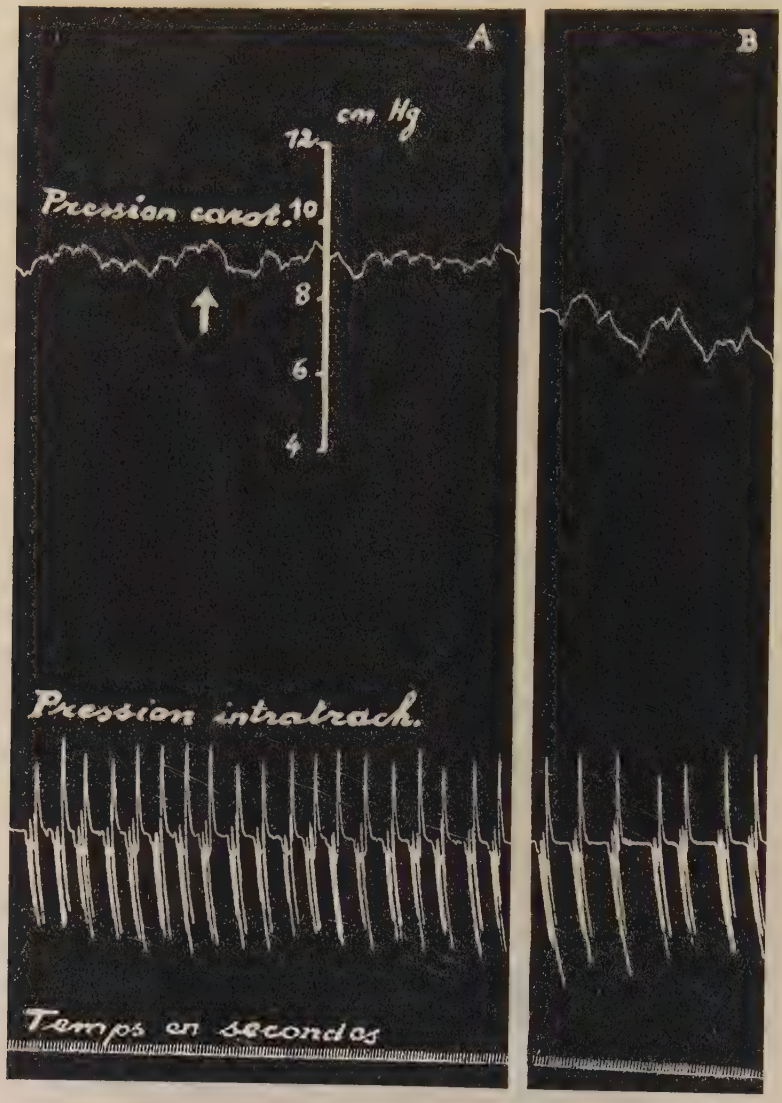


Graphique n° 9

Chien pesant 9,500 kg.

En ↑ : Injection dans la saphène de 0,10 g. de S-gaïazulène par kilog. Hypotention immédiate centrale avec ralentissement cardiaque. (Le pouls passe de 126 à 96). Inhibition des mouvements de la rate. Apnée transitoire, suivie de polypnée.

APRES SECTION DES VAGUES ET ATROPINISATION



Graphique n° 10

Chien pesant 9,500 kg.

(Vagues sectionnés et animal atropinisé - 0,001 g./kg.)

En ↑ : 30 minutes après atropinisation, injection dans la saphène de 0,10 g. de S-gaïazulène par kilog.

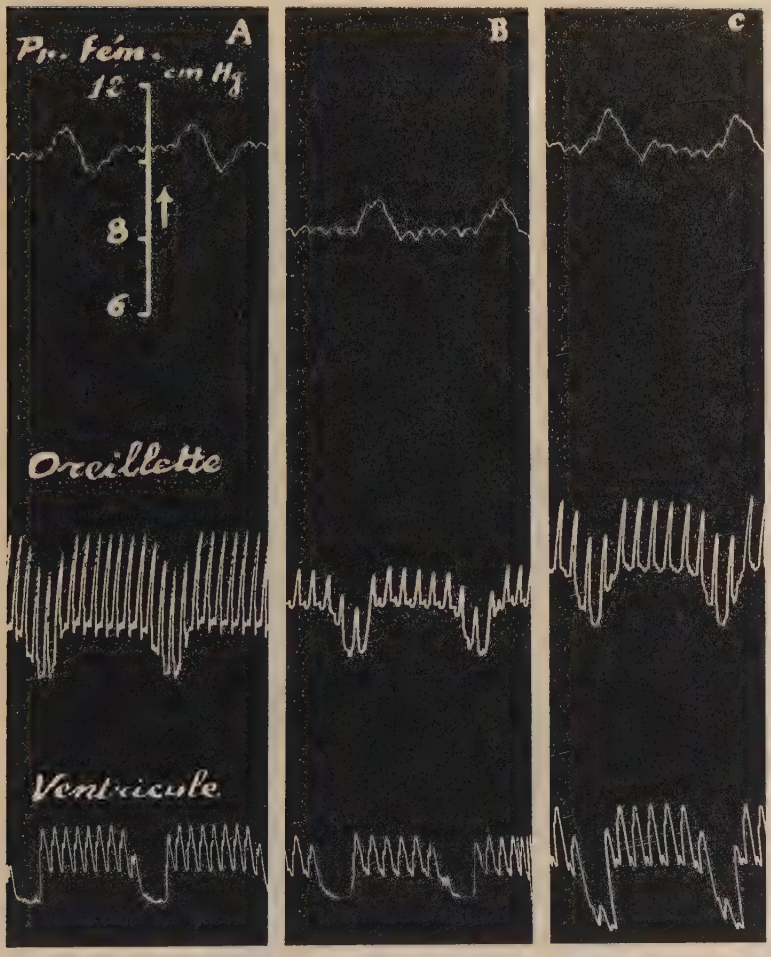
En A : Pas de modifications tensionnelle ou respiratoire.

Entre A et B : 10 minutes.

En B : Hypotension et bradycardie. Respiration un peu ralentie (le pouls passe de 160 à 148).

CŒUR IN SITU

(Avant section des vagues et atropinisation)



Graphique n° 11

Chien pesant 11 kg.

En ↑ : Injection de 0,05 g. de S-gaïazulène par kilog.

Entre A et B : 3 minutes.

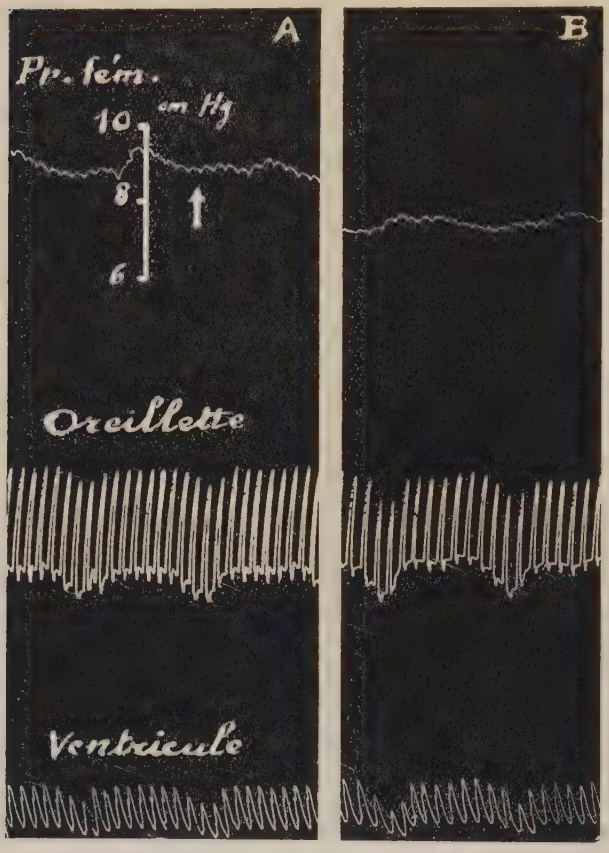
En B : Hypotension, bradycardie (le pouls passe de 122 à 106), chute du tonus de l'oreillette et du ventricule.

Entre B et C : 15 minutes.

En C : Bradycardie non compensée. Retour du tonus auriculaire. Augmentation du tonus ventriculaire.

CŒUR IN SITU

(Après section des vagues et atropinisation)



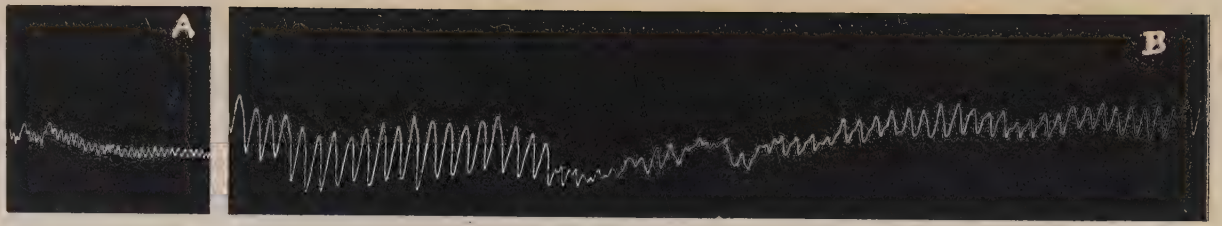
Graphique n° 12

Chien pesant 11 kg. (Vagues sectionnés)

En † : 30 minutes après atropinisation (injection de 0,001 g. de sulfate d'atropine par kilog). administration dans la saphène de 0,05 g. de S-gaïazulène par kilog.

Entre A et B : 10 minutes.

En B : Hypotension, bradycardie. (Le pouls s'abaisse de 161 à 134). Pas de chute importante du tonus de l'oreillette et du ventricule.



Graphique n° 13

Chien pesant 5 kg.

En A : Inscription des mouvements de l'intestin avant ingestion de 10 cc. de S-gaïazulène à la concentration de 10^{-3}.

En B : 1 h. 54' plus tard, apparition de salves persistantes, non dues au réveil de l'animal.

Chez l'animal à vagues sectionnés au cou et atropinisé à la dose de 0,001 g. de sulfate d'atropine par kilog, l'injection intraveineuse de 0,05 g. de S-gaïazulène par kilog d'animal, effectuée au moins trente minutes après l'atropinisation, est suivie d'hypotension et d'effets chronotrope et tonotrope négatifs.

Mais ici, de même que pour l'hypotension, la bradycardie et la chute du tonus cardiaque sont progressives et lentes à s'accuser (graph. 12).

c) **Effets sur la rate**

Le S-gaïazulène, administré au chien à la dose de 0,05 ou 0,10 g. par kilog provoque une diminution précoce des mouvements de la rate (graph. 8), pouvant aller jusqu'à la sidération.

d) **Effets respiratoires**

Le premier effet observé, après administration par voie intraveineuse de 0,10 g. de S-gaïazulène par kilog d'animal, est une apnée transitoire dont la durée n'excède pas une minute (graph. 8 et 9).

Une polypnée intense suit immédiatement avec ou sans variation de l'amplitude des mouvements. Elle peut se prolonger pendant une heure trente à deux heures.

La section des vagues au cou et l'atropinisation empêchent l'apparition de ces effets ou les suppriment quand ils sont déjà installés (graph. 10).

e) **Effets intestinaux**

Le S-gaïazulène, injecté par voie intraveineuse à la dose de 0,10 g. par kilog d'animal, stimule rapidement le péristaltisme intestinal mais l'effet n'est guère durable, l'intestin ne tarde pas à devenir atone. Plus tard paraissent des salves plus importantes mais, elles aussi, passagères. Il semblerait que l'organe réponde à une première excitation vagale puis, ultérieurement à une action directe sur sa musculature.

Introduit directement dans l'estomac, au moyen d'une sonde œsophagienne et sous la forme d'une émulsion tweenée répondant à la formule :

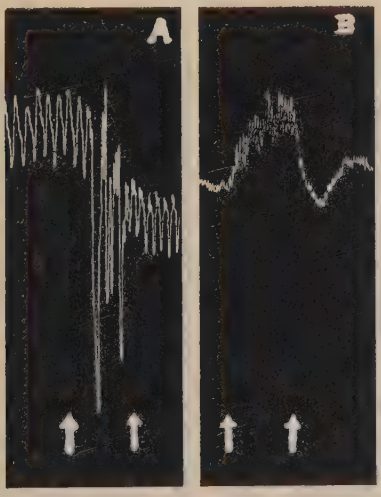
S-gaïazulène	1 g.
Tween 20	1 g.
Eau bidistillée	1.000 cc.

le S-gaïazulène détermine, après administration de 10 cm³ du produit, des salves péristaltiques de très longue durée, apparaissant dans la deuxième heure qui suit l'ingestion (graph. n° 13). Cette dose n'affecte ni la pression, ni la respiration, ni le cœur.

L'effet observé ne doit pas être attribué au Tween 20 qui s'est révélé inactif à cette concentration. Il confirme, au contraire, les résultats obtenus sur l'organe isolé.

f) **Action sur les réflexes**

Nous avons recherché les réponses à la compression des globes oculaires et les réponses à l'occlusion simultanée des deux carotides.



Graphique n° 14

Chien pesant 6 kg.

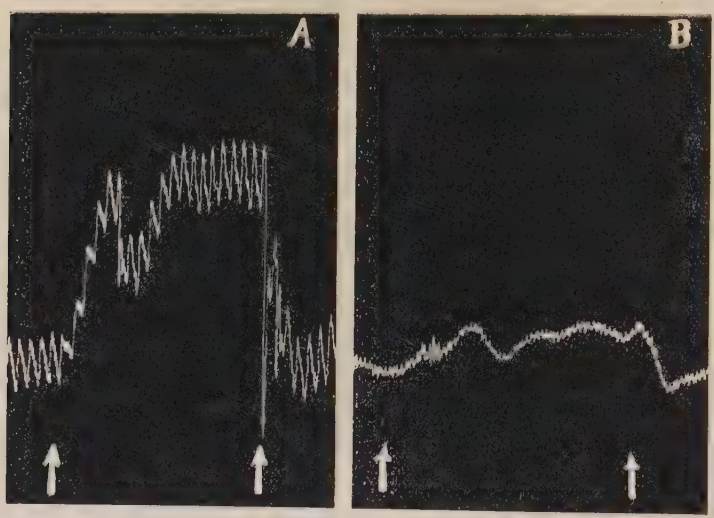
En A ↑ ↑ : Hypotention consécutive à la compression des globes oculaires.

Entre A et B : Injection dans la saphène de 0,10 g. de S-gaïazulène par kilog.

En B ↑ ↑ : 43 minutes après A, hypertension consécutive à la compression des globes oculaires.

α) **Réflexe oculo-cardiaque** : Les doses de S-gaïazulène, administrées au chien, ont déterminé des effets variables qui paraissent en relation avec la réflectivité neuro-végétative propre de l'animal. C'est ainsi que quatre chiens peu vagotoniques et un chien très vagotonique ont eu des réflexes franchement inversés (graph. 14), au moins 40 minutes après administration du produit. Les autres animaux, presque tous moyennement vagotoniques, ont donné des réponses typiques mais atténuées. Un seul d'entre eux a montré une excitabilité plus grande qu'avant l'injection.

β) **Réponse à l'occlusion des carotides** : L'administration, au chien, de 0,05 g. de S-gaïazulène provoque toujours une diminution de l'hypertension consécutive à l'occlusion temporaire simultanée des deux carotides. L'écrasement de la réponse est considérable pour des doses atteignant 0,15 g. par kilog d'animal (graph. 15), même chez des sujets dont la réflectivité vagale n'est pas encore notablement diminuée.



Graphique n° 15
Chien pesant 6,700 kg.

En A ↑ ↑ : Hypertension consécutive à l'occlusion simultanée des deux carotides primitives, pendant une minute.

Entre A et B : Injection de 0,15 g. de S-gaïazulène par kilog.

En B ↑ ↑ : 18 minutes après A. Hypertension consécutive à l'occlusion simultanée des deux carotides primitives.

B) EFFETS DES DOSES MORTELLES

Nous avons essayé de déterminer, selon la méthode de TIFFENEAU (101), l'intoxication mortelle du chien en des temps aussi voisins que possible de 60 minutes.

Le S-gaïazulène a été administré pur, en perfusion lente, dans la saphène.

Les variations de la pression artérielle, de la pression intratrachéale, du volume de la rate, de la motricité intestinale ont été enregistrées et la réflectivité neurovégétative explorée.

Nous avons toujours noté le rythme cardiaque et recherché les réponses tensionnelles à la compression des globes oculaires et à l'occlusion des carotides.

a) Effets tensionnels

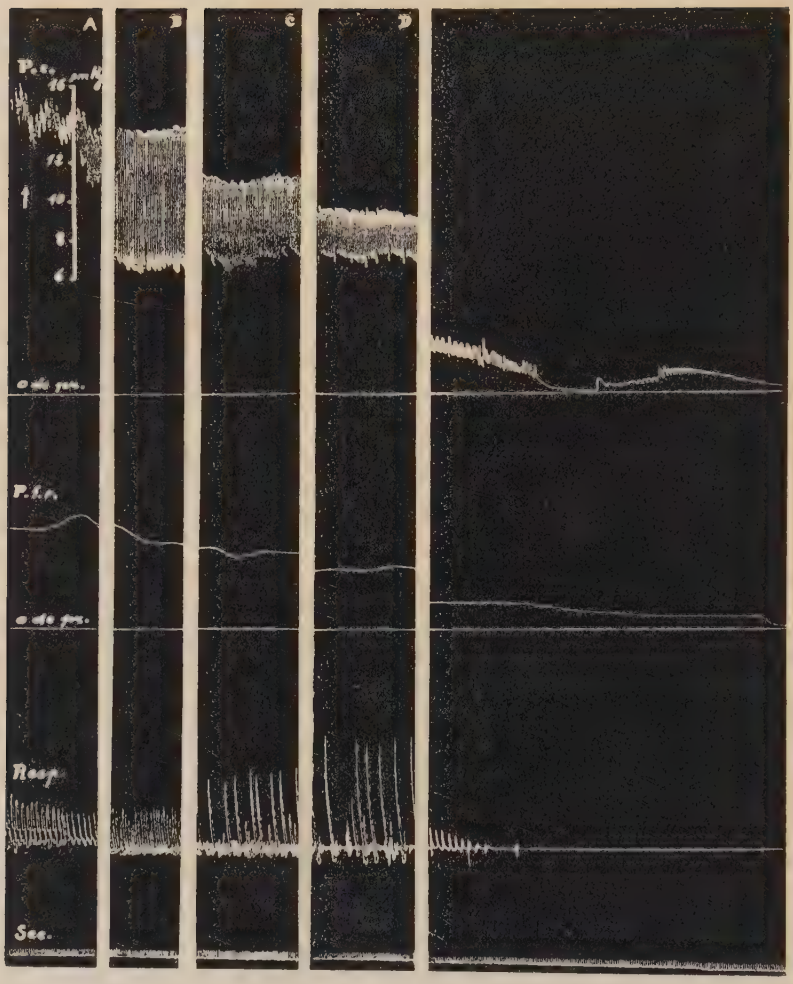
L'administration de S-gaïazulène est toujours suivie d'hypotension. L'abaissement de la pression débute dès le passage des premières doses de l'hydrocarbure dans le torrent circulatoire.

La comparaison des tracés de la pression centrale carotidienne et de la pression fémorale périphérique montre que l'annulation de leurs valeurs respectives est également progressive et proportionnellement concommittente (graph. 16).

b) Effets cardiaques

La fréquence des contractions cardiaques est affectée dès le début de la perfusion. Elle peut perdre jusqu'à 40 % de sa valeur; elle se stabilise jusqu'au dernier quart du temps d'intoxication. Une légère et passagère accélération du rythme se produit alors. La chute de pression jusqu'à zéro est toujours accompagnée d'une extinction progressive des contractions cardiaques.

La différentielle se comporte de deux manières distinctes, au cours de l'intoxication mortelle, selon que le sujet est vagotonique ou non.



Graphique n° 16

Chien pesant 7 kg. (très vagotonique)

En ↑ : Début de perfusion lente de S-gaïazulène pur.
En A : Hypotension centrale immédiate. Bradycardie.
Entre A et B : 5 minutes.
En B : Bradycardie. Différentielle très augmentée. Polypnée.
En B et C : 25 minutes.
En C : Bradycardie maintenue mais atténuation de la différentielle.
Entre C et D : 21 minutes.
En D : Respiration de plus en plus difficile.
Entre D et E : 23 minutes.
En E : Apnée. Pression fémorale récurrente encore notable. Mort de l'animal.

Si l'animal est vagotonique, la valeur de l'élément variable s'accroît très rapidement et les variations de pression entre chaque systole peuvent atteindre jusqu'à 7 cm. Hg (Graph. 16).

Les grandes oscillations perdent progressivement de leur ampleur et disparaissent avec l'hypotension réflexe consécutive à la compression des globes oculaires.

Chez les chiens très peu ou pas vagotoniques, on assiste très rapidement à une extinction de la différentielle (graph. n° 17) après, parfois, une courte phase d'augmentation.

L'excitabilité neurovégétative joue donc, en ceci, un rôle prépondérant.

c) Effets sur la rate

L'on assiste rapidement à une extinction des mouvements spléniques.

d) Effets respiratoires

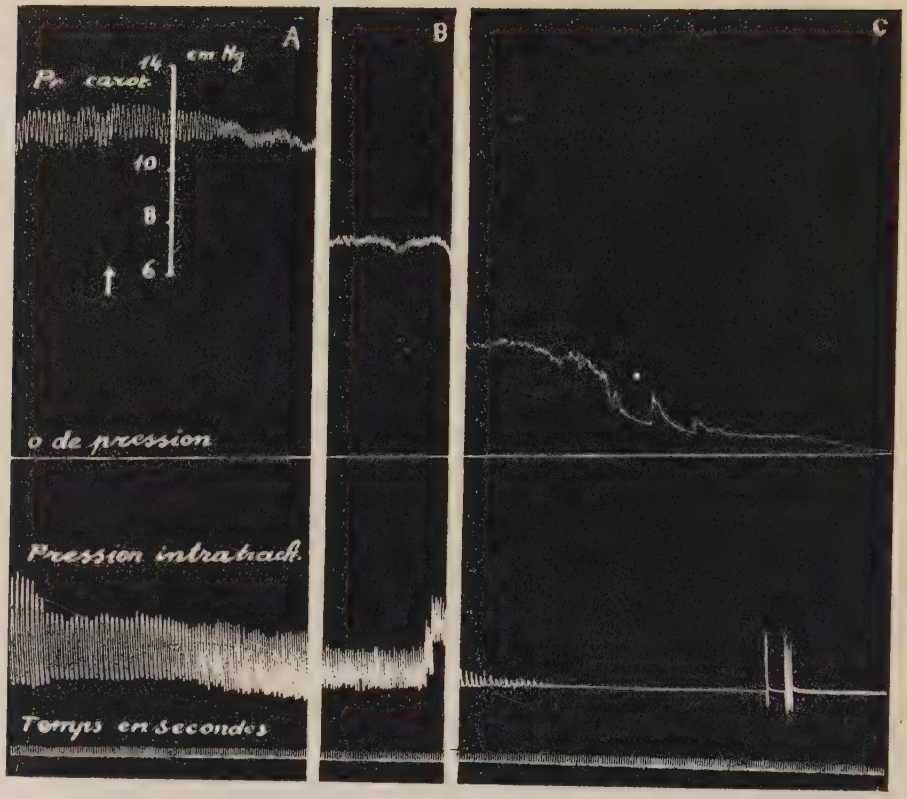
Selon la vitesse avec laquelle les premières doses sont injectées, le S-gaïazulène provoque des effets plus ou moins intenses sur la respiration.

L'arrivée brutale de quantités appréciables du toxique, dans le sang, entraîne une sidération brusque et temporaire des mouvements respiratoires. L'apnée ne dure pas plus d'une minute et elle est toujours suivie de polypnée persistante jusqu'à la dernière phase de l'intoxication mortelle.

La polypnée est primitive quand la perfusion est commencée de manière à ne permettre que le passage de très faibles doses de S-gaïazulène dans le sang.

Le rythme respiratoire peut être multiplié par deux et sa valeur est toujours maintenue pendant les trois quarts de la durée de l'intoxication, c'est-à-dire jusqu'aux courts instants qui annoncent l'apnée mortelle. Dans cette dernière phase, la respiration est difficile, saccadée. Elle se fait parfois sur un rythme périodique. Elle est toujours gênée par l'écoulement d'un liquide sanguinolent et spumeux, issu des poumons.

L'apnée précède toujours l'hypotension totale et l'arrêt du cœur.



Graphique n° 17

Chien pesant 6 kg.

En ↑ : Début de perfusion lente de S-gaïazulène pur.

En A : Diminution de la différentielle. Bradycardie. Polypnée.

Entre A et B : 40 minutes.

En B : Hypotention. Polypnée.

Entre B et C : 1 h. 43'.

En C : Extinction progressive des contractions cardiaques. Apnée. Mort de l'animal.

e) Effets intestinaux

L'administration de S-gaïazulène par voie intraveineuse, en perfusion lente, est toujours suivie d'une excitation de la motricité intestinale. L'apparition des salves péristaltiques est assez précoce et semble souvent être en relation avec la stimulation du système parasympathique observée dès le passage des premières doses du produit dans la circulation.

Nous avons cependant noté l'apparition de puissantes contractions au cours du deuxième tiers de l'intoxication mortelle en environ une heure. Ces salves, passagères, disparaissaient dans une troisième phase caractérisée par l'inertie de l'anse intestinale, comme si les doses fortes exerçaient sur l'organe une action inhibitrice.

f) Action sur les réflexes

La recherche de l'excitabilité parasympathique, par la méthode de la compression des globes oculaires, et de la valeur du tonus sympathique, par la méthode de l'occlusion des carotides, montre que le fonctionnement du système neurovégétatif est gravement perturbé au cours de l'intoxication.

Le réflexe oculo-cardiaque est atténué progressivement. Dans de nombreux cas, il nous a été possible de constater son inversion après administration d'au moins 60 % de la dose léthale.

L'hypertension, consécutive à l'occlusion des carotides, est déjà nettement diminuée sitôt après le passage des premières fractions de S-gaïazulène et tend à s'annuler après le premier tiers du temps de l'intoxication.

C) DISCUSSION DES PHENOMENES OBSERVES

a) Effets tensionnels

La dépression tensionnelle peut dépendre de plusieurs causes susceptibles d'agir isolément ou de façon concommittente. En effet, la valeur de la pression artérielle est sous la dépen-

dance de facteurs cardiaques, vasculaires et sanguins, dont nous avons essayé de reconnaître le rôle dans l'apparition des phénomènes observés.

α) **Action cardiaque.**

Bien que son organisation lui confère la possibilité de fonctionner en dehors de toute influence des centres nerveux, puisque isolé et maintenu en milieu de survie, il continue à se contracter, le cœur, in situ, est sous le contrôle permanent du système nerveux cérébro-spinal, agent régulateur de son activité.

Les fibres cardio-modératrices sont issues de la moitié inférieure du noyau dorsal du bulbe. Elles entrent dans la constitution des deux gros cordons nerveux que forment les pneumogastriques et sont particulièrement abondantes dans le nerf droit. La démonstration de leur influence est faite par l'excitation faradique du bout périphérique de l'un des deux pneumogastriques. Cette excitation est contemporaine, dans le cœur, d'une bradycardie, d'une augmentation de l'excitabilité, d'une diminution de la puissance des contractions et du tonus du myocarde, ainsi que de la vitesse de conduction de l'onde contractile.

La conséquence de la faradisation du vague sur la circulation générale se manifeste par une hypotension.

L'action inhibitrice permanente exercée par le système nerveux parasympathique sur le cœur est témoignée par l'accélération du rythme qui succède à la section des deux nerfs vagues au cou ou à leur suppression physiologique par l'atropine.

Nous avons vu que l'injection de S-gaïazulène, à l'animal vagotomisé et atropinisé, détermine une hypotension contemporaine d'effets chronotrope et tonotrope négatifs, plus lents à s'accuser et moins marqués que chez l'animal entier. Ceci témoignerait de la participation directe du vague dans les processus cardio-modérateurs.

La compression des globes oculaires détermine le départ d'un influx dont la voie centripète est le trijumeau, nerf sensible, et dont la voie centrifuge emprunte les fibres des pneumogastriques. Les effets enregistrés sur le cœur et sur la circulation sont ceux obtenus après faradisation des vagues.

L'étude du réflexe oculo-cardiaque constitue un mode d'investigation susceptible de renseigner quant à l'excitabilité des centres végétatifs cardio-modérateurs. La comparaison des réponses à la compression des globes oculaires avant et après administration d'une substance rend compte de l'action obtenue.

Nous avons vu aussi que le réflexe oculo-cardiaque est toujours plus ou moins diminué par les doses faibles, selon la réflectivité propre du sujet, après action du S-gaïazulène.

Le S-gaïazulène aurait donc une action dépressive sur le tonus et sur le rythme cardiaque. La comparaison de cet effet à celui observé sur l'animal vagotomisé et atropinisé, de même que les modifications du réflexe à la compression des globes oculaires témoignent d'une participation du vague aux processus cardio-modérateurs.

Action du S-gaïazulène sur le cœur isolé de grenouille.

Nous avons essayé de compléter cette étude en soumettant le cœur isolé de grenouille, maintenu en survie par le liquide de Ringer (*), à l'action du S-gaïazulène en milieu tweené, à 1 ‰, répondant à la formule :

S-gaïazulène	1 g.
Tween 20	1 g.
Liquide de Ringer.....	1.000 cm³

L'organe est préparé comme suit :

Une grenouille immobilisée par décérébration et destruction de la moelle est épinglée sur le dos. Son cœur est mis à nu en découpant un plastron que l'on rejette. L'aorte droite est ligaturée. L'extrémité du cœur est saisie au moyen d'une petite pince cardiaque ou mieux, attachée au moyen d'un fil de soie.

Une canule en verre, simple tube effilé et modérément renflé en olive à un bout, est introduite dans l'aorte gauche précautionneusement incisée dans ce but.

Pour éviter tout ennui résultant de coagulations sangui-

(*) **Liquide de Ringer :**
Chlorure de sodium 6,5 g., chlorure de potassium 0,14 g., Chlorure de sodium 0,12 g., bicarbonate de sodium 0,20 g., Phosphate monosodique 0,20 g., Eau distillée 1000 cm³.

nes, il est prudent de procéder immédiatement a un lavage du cœur par la solution de Ringer. L'organe est ensuite isolé et l'extrémité libre du fil appendu à sa pointe est fixée à un myographe qui inscrit ses contractions sur un cylindre enregistreur.

Nous avons dû tenir compte de la présence des tweens dans les émulsions et rechercher leurs effets propres.

Les solutions de tweens 20 ou 80 ont une action toxique sur le cœur de grenouille isolé dont elles suppriment les contractions en une à deux minutes après leur addition au milieu. Leurs effets se manifestent dès la concentration de 10^{-4} en tween 20 ou 80 (graph. 18).

Nous devons signaler, cependant, l'effet retardateur du S-gaïazulène sur l'action nocive exercée par les deux corps précités.

En présence du S-gaïazulène, aux mêmes concentrations que les tweens dans le milieu de survie, l'apparition des troubles cardiaques ne se fait plus qu'au bout de 6 à 8 minutes (graph. 19).

Peut-être que l'hydrocarbure n'agit qu'en retardant la vitesse d'absorption des produits actifs. En effet, nous avons constaté par ailleurs que les membranes cellulaires n'autorisent qu'un passage très lent de cet hydrocarbure. Ceci est confirmé par le fait que les phénomènes toxiques ne se manifestent que lorsque l'organe bleuit.

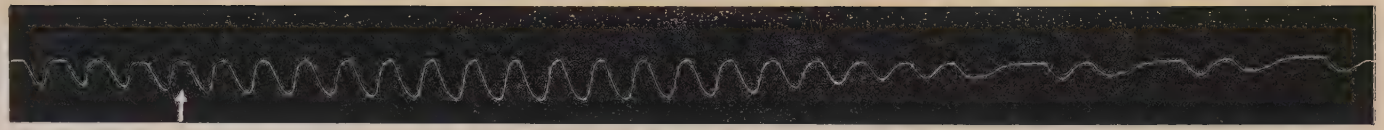
L'arrêt du ventricule précède celui de l'oreillette et se fait en systole très accusée alors que les tweens l'immobilisent en diastole.

β) **Action vasculaire.**

Le mécanisme de l'hypotension observée relève donc d'une action vagale plus ou moins transitoire et d'une action sur le myocarde. Le S-gaïazulène ne provoquerait-il pas une stase sanguine, non dans la rate qui perd toute tonicité, mais dans les territoires vasculaires périphériques et particulièrement dans les vaisseaux des membres (vasodilatation périphérique) ?

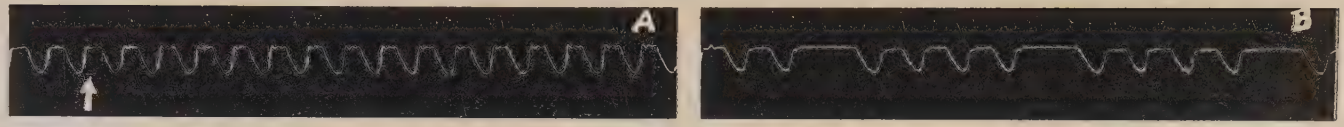
La recherche d'une action vasculaire périphérique peut se faire en appliquant l'élégante technique des trois manomè-

CŒUR DE GRENOUILLE



Graphique n° 18

En ↑ : Tween 20, 10^{-4}. L'effet toxique se manifeste rapidement.
Entre ↑ et le ralentissement cardiaque : 50 secondes.



Graphique n° 19

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-4} et Tween 10^{-4}.
Entre A et B : 6 minutes.
En B : Effet toxique très retardé par rapport au graphique n° 18.

tres décrite par NOLF (63) mais, appliquée au cas qui nous intéresse, cela laisserait supposer que le S-gaïazulène est rapidement absorbé par les tissus et que la réponse périphérique précèderait éventuellement la réponse centrale. Il n'en est rien. L'absorption de ce corps est trop lente pour accorder une valeur aux réponses négatives que nous avons cependant enregistrées en nous contentant de l'injecter dans le bout central d'une artère fémorale et d'inscrire en même temps les variations de pression dans le bout périphérique du vaisseau et dans le bout central d'une carotide.

Nous croyons devoir attacher davantage de crédit aux indications données par la comparaison des valeurs des pressions centrale et récurrente inscrites simultanément au cours de déterminations de doses mortelles, selon une méthode déjà utilisée par R. DELAS et Coll. (25). Toute vasodilatation périphérique provoque une hypotension plus profonde dans le bout préripliérique de l'artère fémorale que dans le bout central de la carotide.

Le rapport des valeurs $\frac{\text{pression fémorale récurrente}}{\text{pression centrale}}$ s'abaissera donc rapidement et tendra à devenir nul dans les dernières phases de l'intoxication.

Il ne nous a jamais été possible d'enregistrer des variations de cet ordre (graph. 16). La chute des valeurs des deux pressions a toujours été progressive et proportionnelle. Nous n'avons donc pas pu, par cette méthode, mettre en évidence l'existence d'une action périphérique notable.

γ) **Action sur le tonus sympathique.**

HERING a montré que, à la bifurcation de la carotide primitive en carotides externe et interne, la zone sino-carotidienne est le point de départ périodique d'influx nés sous le choc de l'ondée sanguine. La voie centripète de cet influx est le nerf de Hering qui, rejoignant le glosso-pharyngien, aboutit au bulbe. Sa voie centrifuge est le pneumogastrique. L'occlusion simultanée des deux carotides primitives, en supprimant la circulation dans ces vaisseaux, supprime aussi l'excitation de la zone réflexogène. L'effet inhibiteur permanent, entretenu par le jeu des contractions cardiaques, cesse

de s'exercer et il s'ensuit une hypertension, dont la valeur rend compte du tonus sympathique, mais qui dépend aussi du tonus vagal du sujet. La confrontation du réflexe oculo-cardiaque à la réponse hypertensive recherchée avant et après injection d'une substance permettra d'apprécier les effets sur le tonus des centres sympathiques.

Nous avons vu que la réponse hypertensive à l'occlusion des carotides est notablement diminuée, alors même que la réflectivité vagale est déjà sensiblement affectée.

On peut donc conclure que le S-gaïazulène, administré par voie veineuse, inhibe le tonus sympathique du chien chloralosé.

Il convient, certainement, de tenir compte, dans les effets observés, d'une action dépressive déjà subie par les centres vasomoteurs.

δ) **Action sur les centres vaso-moteurs.**

Les effets hypotenseurs obtenus par administration de doses modérées de S-gaïazulène ne permettent pas de considérer de façon satisfaisante l'action de ce corps sur les centres vaso-moteurs. Par contre, l'examen des phénomènes tensionnels accompagnant l'intoxication mortelle ou non montre que ces centres sont atteints et que l'hypotension qui s'établit traduit leur inhibition sous l'action toxique de la substance.

b) **Effets respiratoires**

Les effets respiratoires du S-gaïazulène se manifestent par une apnée précoce, en réponse aux doses administrées brutalement. Les doses moins violentes déterminent l'apparition d'une polypnée prolongée. La section des vagues empêche l'apparition de ces effets ou les suppriment quand ils sont déjà établis.

Le S-gaïazulène exerce donc, au moins partiellement, son action par l'intermédiaire du vague, nerf sensible du poumon. On sait, en effet, qu'une faible excitation du bout central pneumogastrique détermine une polypnée. Or, le poumon, voie d'élimination des produits volatils, est l'organe qui retient le plus facilement le composé azulénique. La per-

sistance de ce corps dans l'appareil respiratoire expliquerait la durée de l'effet observé.

Une forte excitation du pneumogastrique s'accompagne d'apnée passagère. Cette apnée est reproduite au moment de l'arrivée brutale des premières doses de l'hydrocarbure. D'autre part, chez l'animal à vague excitable et polynéique, la compression des globes oculaires entraîne l'apnée qu'il est habituel de considérer en pareil cas. Ceci confirmerait que les effets respiratoires obtenus varient surtout en fonction de l'intensité de l'excitation qui sollicite le pneumogastrique.

DOSES LETHALES

Les quantités, relativement faibles, de S-gaïazulène dont nous avons pu disposer ne nous ont pas permis d'opérer sur un nombre de chiens assez élevé. Nos résultats sont donc insuffisants pour se faire une idée précise de la dose du produit capable de tuer le chien en un temps voisin de 60 minutes.

Après un essai préliminaire, nous avons réussi à sacrifier quatre chiens adultes, d'un poids moyen de 6 kgs environ, en des temps compris entre 2 h. 30 et 30 minutes. Il semble que les doses voisines de 0,70 g. par kilog seraient capables de provoquer la mort des animaux en des temps approchant 1 heure.

TABLEAU N° 15

DOSES LETHALES DE S-GAIAZULENE EN FONCTION DU TEMPS DE PERFUSION

Chien n°	Sexe	Poids en kg.	Dose injectée par kg. animal	Durée de la perfusion
1	♂	6,700	0,15	non mort
2	♂	6,000	0,50	2 h. 30
3	♂	5,000	1	47 min.
4	♂	6,500	0,80	30 min.
5	♂	7,000	0,70	82 min.

3. — INVESTIGATIONS COMPLEMENTAIRES

A) LOCALISATION DU S-GAIAZULENE

La méthode de détermination de l'action toxique, la volatilité du produit, ses affinités pour les lipides et la lenteur de son absorption par les cellules conditionnent la localisation du S-gaïazulène.

L'hydrocarbure existe encore dans le sang, au moment de la mort du sujet, de telle sorte qu'il est répandu dans tout l'organisme, même à l'état de traces. Les poumons, émonctoires des substances volatiles, en sont particulièrement chargés. Dans le cerveau, le cœur, le foie, la rate et les reins la présence de traces de S-gaïazulène a été révélée après que ces organes aient été pulpés et l'hydrocarbure soumis à un entraînement par la vapeur d'eau. Il est remarquable que la barrière hépatique n'en accumule pas des quantités notables comme l'on pourrait s'y attendre. L'affinité des azulènes pour les substances lipidiques fait que notre produit se retrouve dans tout le parenchyme adipeux.

B) LESIONS ORGANIQUES PROVOQUEES PAR LE S-GAIAZULENE

Nous avons procédé à l'examen histologique de tissus prélevés sur les sujets dès leur mort. Des fragments de cerveau, de poumon, de rein, de surrénale et d'intestin ont été étudiés et nous ont permis de faire les constatations suivantes :

a) Cortex cérébral

Structure normale.

b) Poumon

Lésions d'alvéolite œdémateuse. La majorité des alvéoles pulmonaires sont remplies par un exsudat fibrineux, com-

prenant d'assez nombreuses cellules alvéolaires, desquamées. Remplissage partiel des petites bronches intralobulaires.

c) Rein

Au niveau des glomérules : congestion vasculaire importante, sans qu'il y ait pour cela d'érythrodiapédèse.

Au niveau des portions sécrétrices des tubes rénaux, quelques légers signes de néphrite tubulaire avec oblitérations des lumières par des produits cellulaires de desquamations.

Au niveau du tissu interstitiel, pas de lésions visibles.

d) Surrénale

Cytolyse importante, au niveau de la médullo-surrénale, d'origine post-mortem très certainement.

e) Paroi intestinale

L'observation de coupes congelées, faite au microscope à contraste de phase, nous a permis de constater la présence de S-gaïazulène au niveau des lumières vasculaires et sa diffusion aux parois des vaisseaux.

C) ACTION SUR LA GLYCEMIE, L'UREMIE ET LA CHOLESTEROLEMIE

Les phénomènes d'intoxication ne s'accompagnent pas de modifications notables de ces constantes sanguines.

4. — CONCLUSIONS

Nous avons suivi les effets du S-gaïazulène sur le chien chloralosé et nous avons déterminé l'action de doses non mortelles et celle de doses mortelles.

Nous avons montré que le S-gaïazulène pur, aux doses supérieures à 0,05 g. par kilog, agit sur la pression, sur le cœur et sur la respiration.

a) Action sur la pression et sur le cœur.

Grâce à la méthode dite du cœur suspendu, nous avons pu mettre en évidence l'action dépressive de l'hydrocarbure sur le myocarde de l'animal dont les réponses vagales ont été supprimées par section chirurgicale et physiologique des pneumogastriques.

La comparaison des effets obtenus, avant et après élimination de la réflectivité parasympathique, sur la pression et sur le cœur nous ont permis de déceler une action du S-gaïazulène sur le système parasympathique. Il semblerait que ce produit provoque une excitation vagale qui participe à l'établissement de l'hypotention et de la bradycardie constatées.

b) Action sur la réflectivité neuro-végétative.

L'étude de la réflectivité neuro-végétative faite en pratiquant la compression des globes oculaires (recherche du réflexe oculo-cardiaque) et l'occlusion des carotides (recherche du tonus sympathique) nous permet de conclure à l'action inhibitrice qu'exerce le S-gaïazulène sur les deux systèmes autonomes.

Il semblerait que le parasympathique soit d'abord excité, puis progressivement inhibé tandis que le tonus sympathique serait très précocement diminué.

c) Action périphérique.

L'enregistrement simultané de la pression carotidienne centrale et de la pression fémorale périphérique ne nous a

pas permis de reconnaître une action vasodilatatrice périphérique notable.

d) **Action sur la respiration.**

Nous avons recherché l'action du S-gaïazulène sur la respiration et nous avons vu que ce corps, administré à doses fortes, par voie intraveineuse, provoque une apnée transitoire suivie de polypnée persistante. La section chirurgicale et physiologique du système vagal supprimant ces réponses, nous avons cru pouvoir conclure que l'un des effets du S-gaïazulène est de produire l'excitation du pneumogastrique au niveau du parenchyme pulmonaire.

e) **Action sur l'intestin.**

L'enregistrement des mouvements intestinaux nous a permis de constater l'action stimulante de notre produit sur la motricité intestinale. Il est possible que l'effet observé résulte d'une excitation vagale et d'une action propre sur la fibre intestinale.

Nous avons mis en évidence l'action excito-motrice de solutions d'azulène tweenées administrées par voie buccale.

INTOXICATION MORTELLE OU SURAIGUE

En procédant selon la méthode de TIFFENEAU, nous avons suivi les effets du S-gaïazulène administré par voie intraveineuse, en perfusion lente, jusqu'à la mort de l'animal.

Au cours de l'intoxication mortelle (ou suraiguë) nous avons constaté des effets tensionnels et respiratoires.

a) **Action sur la pression.**

Hypotension progressive accompagnée de bradycardie et de variations de la différentielle selon la réflectivité neuro-végétative du sujet.

b) **Action sur la respiration.**

1° Apnée transitoire, provoquée par administration brutale

des doses dans le torrent circulatoire, suivie de polypnée durable.

2° Polypnée primitive et durable quand les premières doses perfusées sont faibles.

3° Apnée mortelle qui précède toujours l'hypotension terminale et l'arrêt du cœur.

c) **Doses léthales.**

La dose léthale en ± 60 minutes se situe aux environs de 0,70 g/kg.

d) **Localisation.**

L'autopsie pratiquée sitôt après la mort des sujets, l'examen histologique de coupes d'organes et l'extraction des azulènes par entraînement à la vapeur d'eau nous ont permis de faire les constatations suivantes :

1° Le sang renferme encore du S-gaïazulène de telle sorte que tout l'organisme en contient.

2° Le cerveau, le cœur, le foie, les reins et la rate n'en retiennent que des traces.

3° Le poumon, qui constitue l'émonctoire principal de l'hydrocarbure, en retient d'importantes quantités.

4° Le poumon et le rein sont lésés par le S-gaïazulène.

e) **Action sur la glycémie, l'urémie et la cholestérolémie.**

La glycémie, l'urémie et la cholestérolémie ne sont pas sensiblement modifiées au cours de l'intoxication aiguë.

IV. — ETUDES PHARMACODYNAMIQUES SUR ORGANES ISOLÉS

a) UTERUS DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS

b) INTESTINS DE RAT ET DE SOURIS

c) POUMON ET TRACHEE DE COBAYE

d) MUSCLE DORSAL DE SANGSUE

a) ACTION DU S-GAIAZULENE SUR L'UTERUS DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS

Nous avons recherché les effets exercés par le S-gaïazulène émulsionné en solution aqueuse tweenée, sur la corne utérine isolée de cobaye, de rate et de souris. La préparation de l'expérience est faite comme suit :

Une femelle de l'espèce choisie est sacrifiée par section du cou et son abdomen ouvert selon la ligne médiane. En écartant la masse intestinale, on découvre les organes génitaux. Les cornes, surmontées des ovaires, paraissent sous l'aspect de deux cordons blanchâtres, tendus et convergents vers la base du bassin, pour se confondre en un utérus très court.

Le prélèvement des organes doit être fait très minutieusement afin de ne pas en léser les fibres. Chaque corne est séparée du mésentère, au moyen de ciseaux fins. Deux fils distants de 10 mm. environ y sont solidement noués. Après section à 1 mm. de chaque fil, de manière à l'isoler avec ceux-ci, la corne est transportée dans un récipient d'une contenance de 100 cm³ environ, rempli de solution de Tyrode (*) maintenue à la température de 38°. Elle est fixée, par un des fils, à l'extrémité inférieure coudée d'un tube d'arrivée d'air. L'autre fil est adapté à un myographe.

L'oxygénation et la traction exercées sur l'organe doivent être soigneusement réglées. En effet, G. GAZET du CHATELIER et Mlle Chr. ASSENMACHER (34) ont récemment montré l'importance qu'il faut attribuer à l'oxygénation dans l'apparition des contractions de l'utérus isolé de cobaye vierge. D'autre part, il convient de régler l'équilibre du myographe de manière à ne soumettre la corne qu'à une traction modé-

---

(*) Solution de Tyrode :

Solution A : Chlorure de sodium 180 g., chlorure de potassium 8,4 g., chlorure de calcium 2,4 g., chlorure de magnésium 0,10 g. Eau distillée q. d. 1.000 cm³.

Solution B : Bicarbonate de soude 0,5 g., Eau distillée 10 cc. Au moment de l'emploi, préparer la solution suivante : Glucose 0,5 g., Solution A 50 cc., Solution B 10 cc., Eeau distillée 940 cc.
Solution A 50 cm³, Solution B 10 cm³, Eau distillée 940 cm³.

rée. L'organe étant toujours contracté après son montage, il faut, en outre, attendre son relâchement et vérifier si il s'agite spontanément ou non. Pour cela, il est prudent de le laisser au repos pendant au moins 45 minutes après son adaptation au myographe.

Préparation des milieux d'essai.

Pour opérer avec des dilutions de S-gaïazulène de titres connus, à un volume déterminé de solution de Tyrode, où baigne l'organe, nous ajoutons une quantité convenable d'émulsion-mère répondant à la formule :

S-gaïazulène	1 g.
Tweens 20 ou 80	1 g.
Eau bidistillée q. s.	100 cm³

de manière à obtenir un volume total de 100 cm³.

ACTION DES TWEENS 20 ET 80

Dans des essais préliminaires, nous avons vérifié que les tweens 20 ou 80 ne modifient pas la contractilité de la fibre utérine isolée de cobaye, de rate et de souris aux concentrations inférieures à 10^{-3}.

ACTION DU S-GAIAZULENE

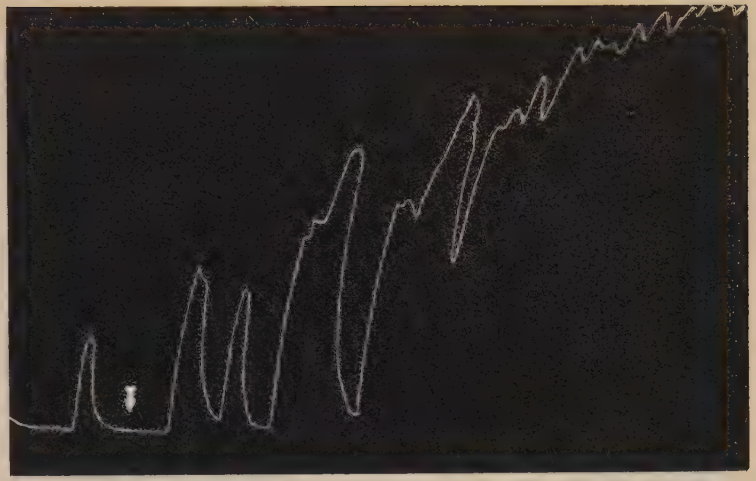
a) Action sur le cobaye.

Nous avons recherché les effets du S-gaïazulène sur la corne utérine d'animaux impubères et pubères.

Utérus d'animaux impubères.

Les cornes utérines isolées de femelles impubères n'ont pas, généralement, de contractions spontanées. Le S-gaïazulène, dès la concentration de 10^{-5}, détermine sur ces organes l'apparition d'une contraction puissante et rapide (graphique n° 20), suivie d'autres contractions de moindre amplitude, selon la dose utilisée (graphique n° 21). Il n'y a jamais retour

Graphique n° 20



Graphique n° 21

Cobaye impubère : en ↓, S-gaïazulène 10^{-5}.

Cobaye pubère : en ↓, S-gaïazulène 10^{-5}; augmentation de la fréquence des contractions et élévation du tonus des fibres.

Graphique n° 22

Cobaye pubère : en ↓, S-gaïazulène 10^{-5}; contractions rythmiques.

spontané au tonus initial, quel que soit le titre du milieu en produit actif.

Les doses fortes, atteignant au moins 10^{-4}, provoquent une contraction tétanique.

Utérus d'animaux pubères.

Les cornes utérines isolées de femelles pubères sont animées de contractions rythmiques. Le S-gaïazulène, à la concentration de 10^{-5}, détermine régulièrement :

— une augmentation de la fréquence des mouvements ou une succession de contractions qui, à leur maximum d'intensité donnent une courbe d'enregistrement, affectent l'allure d'un palier (graphique n° 22);

— une élévation du tonus.

A la dose de 10^{-4}, le S-gaïazulène détermine :

— l'augmentatiton de la fréquence des mouvements;

— un accroissement progressif du tonus des fibres qui sont mises en tétanos presque parfait. La courbe obtenue rappelle le profil d'une crête de coq.

Le sulfate d'atropine exerce un effet inhibiteur sur l'action du S-gaïazulène.

b) **Action sur la rate et sur la souris.**

Les réponses des cornes utérines isolées de rate et de souris pubères reproduisent celles obtenues sur le cobaye. La stimulation des contractions et l'élévation du tonus se produisent dès la concentration de 10^{-5} en S-gaïazulène (graphiques n° 23 et n° 24).

Dans tous les cas étudiés, les effets consécutifs à l'action du S-gaïazulène ne se manifestent qu'après un délai variable, dépassant parfois 30 secondes, ce qui indique une absorption lente et une fixation du produit dans l'organe.

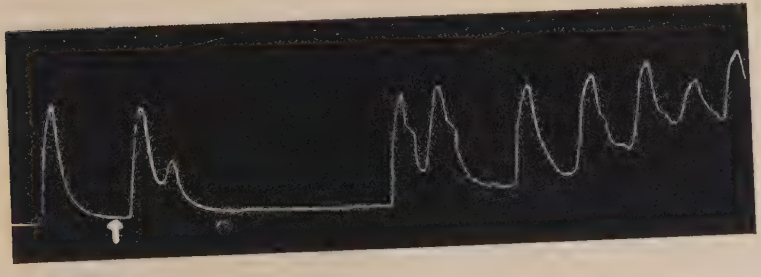
Le S-gaïazulène agit donc sur la corne utérine isolée de cobaye, de rate et de souris, à la manière de l'acétylcholine, mais les courbes obtenues avec les organes d'animaux pubères reproduisent davantage les courbes inscrites sous l'action de l'ergotamine. Cependant, il ne faut pas comparer l'action de l'hydrocarbure azulénique à celle de ce corps car le délai qui précède l'apparition des effets et l'allure générale de la courbe sont les seuls caractères communs à ces deux ocytociques.

UTERUS DE RATE PUBERE

Graphique n° 23

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5}; augmentation de la fréquence des contractions.

UTERUS DE SOURIS PUBERE



Graphique n° 24

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : Elévation du tonus et augmentation de la fréquence des contractions.

ACTION ABORTIVE DU S-GAIAZULENE

En raison de l'action du S-gaïazulène sur l'utérus isolé, nous avons recherché si ce corps n'exercerait pas une action abortive sur la femelle gestante. Nous avons administré par voie intrapéritonéale à un lot de souris, en gestation depuis des temps variables, une dose unique de 0,0125 g. de S-gaïazu-

spontané au tonus initial, quel que soit le titre du milieu en produit actif.

Les doses fortes, atteignant au moins 10^{-4}, provoquent une contraction tétanique.

Utérus d'animaux pubères.

Les cornes utérines isolées de femelles pubères sont animées de contractions rythmiques. Le S-gaïazulène, à la concentration de 10^{-5}, détermine régulièrement :

— une augmentation de la fréquence des mouvements ou une succession de contractions qui, à leur maximum d'intensité donnent une courbe d'enregistrement, affectent l'allure d'un palier (graphique n° 22);

— une élévation du tonus.

A la dose de 10^{-4}, le S-gaïazulène détermine :

— l'augmentatiton de la fréquence des mouvements;

— un accroissement progressif du tonus des fibres qui sont mises en tétanos presque parfait. La courbe obtenue rappelle le profil d'une crête de coq.

Le sulfate d'atropine exerce un effet inhibiteur sur l'action du S-gaïazulène.

b) **Action sur la rate et sur la souris.**

Les réponses des cornes utérines isolées de rate et de souris pubères reproduisent celles obtenues sur le cobaye. La stimulation des contractions et l'élévation du tonus se produisent dès la concentration de 10^{-5} en S-gaïazulène (graphiques n° 23 et n° 24).

Dans tous les cas étudiés, les effets consécutifs à l'action du S-gaïazulène ne se manifestent qu'après un délai variable, dépassant parfois 30 secondes, ce qui indique une absorption lente et une fixation du produit dans l'organe.

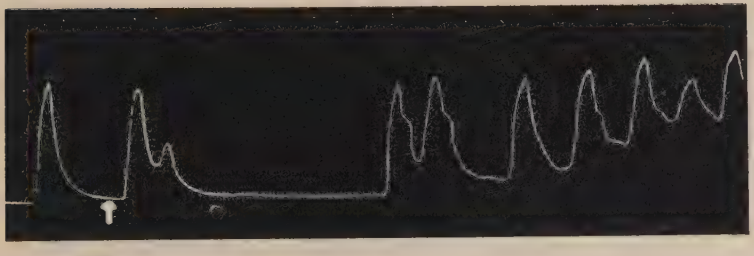
Le S-gaïazulène agit donc sur la corne utérine isolée de cobaye, de rate et de souris, à la manière de l'acétylcholine, mais les courbes obtenues avec les organes d'animaux pubères reproduisent davantage les courbes inscrites sous l'action de l'ergotamine. Cependant, il ne faut pas comparer l'action de l'hydrocarbure azulénique à celle de ce corps car le délai qui précède l'apparition des effets et l'allure générale de la courbe sont les seuls caractères communs à ces deux ocytociques.

UTERUS DE RATE PUBERE

Graphique n° 23

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5}; augmentation de la fréquence des contractions.

UTERUS DE SOURIS PUBERE



Graphique n° 24

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : Elévation du tonus et augmentation de la fréquence des contractions.

ACTION ABORTIVE DU S-GAIAZULENE

En raison de l'action du S-gaïazulène sur l'utérus isolé, nous avons recherché si ce corps n'exercerait pas une action abortive sur la femelle gestante. Nous avons administré par voie intrapéritonéale à un lot de souris, en gestation depuis des temps variables, une dose unique de 0,0125 g. de S-gaïazu-

lène dissous, à parties égales, dans de l'huile d'olive neutralisée. Presque toutes les injections ont été suivies d'avortement, mais beaucoup d'animaux ont succombé au cours de la mise bas, surtout quand le ou les fœtus ne naissaient pas viables. D'autres femelles ont échelonné dans le temps l'expulsion de leurs fœtus. C'est ainsi qu'une souris a d'abord rejeté cinq souriceaux qui ont survécu normalement puis, quatre jours plus tard, trois autres animaux qui semblent être nés au terme normal de la gestation. La survie de la mère est d'autant plus assurée que le développement du fœtus est plus complet.

TABLEAU N° 16

ACTION ABORTIVE DU S-GAIAZULENE INJECTE A LA SOURIS GESTANTE

Souris n°	Poids en g.	Dose injectée en mg.	EFFETS
1	26	125	Néant
2	26	125	Morte
3	27	125	2 fœtus expulsés le surlendemain. Mère morte.
4	29	125	5 souriceaux nés viables le lendemain. Mère survivante.
5	30	125	4 fœtus expulsés. Mère morte. 1 fœtus dans l'utérus.
6	30	125	Néant
7	30	125	5 souriceaux nés viables. Mère survivante.
8	32	125	1 fœtus expulsé le surlendemain. Mère morte.
9	33	125	Néant
10	33	125	4 fœtus expulsés le troisième jour. Mère morte.
11	33	125	Morte
12	33	125	Mise bas normale après six jours.
13	33	125	Néant
14	33	125	Mise bas normale après cinq jours.
15	35	125	5 souriceaux nés viables le lendemain. Après quatre jours : 3 souriceaux normaux. Mère survivante.
16	36	125	5 souriceaux nés viables le lendemain.

b) ESSAIS DU S-GAIAZULENE SUR L'INTESTIN ISOLE DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS

Nous avons recherché les effets exercés par le S-gaïazulène, émulsionné en solution aqueuse tweenée, sur l'intestin isolé du cobaye, de rat et de souris. La préparation de l'expérience est faite comme suit :

L'animal privé de nourriture depuis au moins 18 heures, est sacrifié par section du cou. Son abdomen est incisé le long de la ligne médiane et une anse vide, non distendue par les gaz, est ligaturée au moyen de deux fils de soie distants de 1 cm. environ.

Sectionnée de part et d'autre des fils, l'anse est portée dans un récipient contenant 100 cm^3 de solution de Tyrode maintenue à la température de 38°. Le montage est effectué comme pour l'utérus isolé, en réglant l'oxygénation de façon convenable. La traction exercée sur l'organe, par le myographe, doit être suffisamment forte pour permettre un enregistrement satisfaisant sans cependant provoquer une fatigue excessive de l'intestin.

Le mode de préparation des émulsions, à l'action desquelles les anses intestinales sont soumises, est identique à celui indiqué pour les essais sur utérus isolé.

ACTION DU TWEEN 20 SUR L'INTESTIN ISOLE DE COBAYE, DE RAT ET DE SOURIS

A la suite d'essais préliminaires, nous avons vérifié que les tweens 20 et 80, aux concentrations inférieures à 10^{-3}, ne modifient par la contractilité de l'intestin isolé de cobaye, de rat et de souris. Seul le tonus peut être abaissé dès la concentration de 10^{-5}.

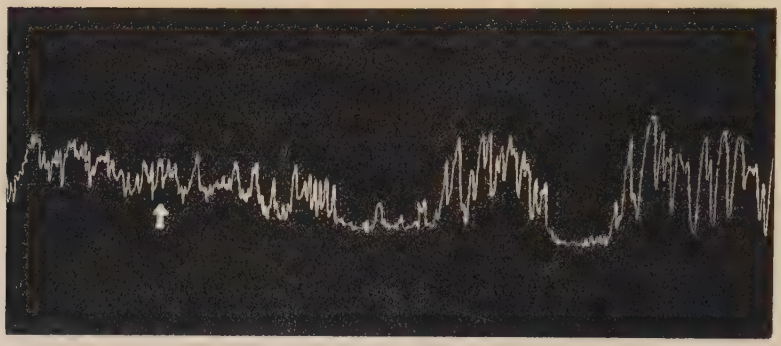
ACTION DU S-GAIAZULENE

a) Sur l'intestin isolé de cobaye

Le S-gaïazulène dès la dose de 10^{-5}, dans une solution de Tyrode maintenue à la température de 38°, stimule la contrac-

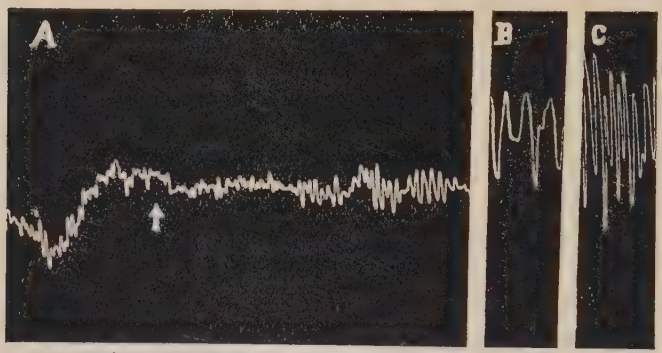
tilité de l'intestin isolé de cobaye (graphique n° 25). Les effets ne se manifestent qu'après un délai d'au moins 2 minutes.

INTESTIN DE COBAYE



Graphique n° 25

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : augmentation de l'amplitude des contractions.



Graphique n° 26

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-4}.

En B : Contractions de grande amplitude, après 20 minutes. Augmentation du tonus.

En C : Contractions très amples, après lavage.

L'amplitude des contractions et leur fréquence sont, chez certains organes particulièrement sensibles, considérablement

augmentés. Ces modifications sont parfois précédées d'une détente des fibres, probablement imputable à la présence du tween dans le milieu. A part cette phase précoce et inconstante, l'on n'observe une variation du tonus que dans des périodes très brèves où les contractions affectent une allure tétanique.

A la dose indiquée, l'action du S-gaïazulène peut se prolonger sans variations importantes pendant 30 minutes ou davantage, à condition de ne pas soumettre l'organe à une traction trop forte pour lui éviter une fatigue d'origine mécanique. Au bout d'un temps indéterminé, des effets toxiques se manifestent; les contractions deviennent moins vigoureuses et moins amples. Le seul fait de replacer l'anse intestinale dans une solution de Tyrode pure suffit pour provoquer la réapparition des grandes oscillations (graphique n° 26), comme si l'accumulation du S-gaïazulène dans les tissus déterminait des effets nocifs. L'absorption du S-gaïazulène par les tissus serait donc très lente et son action pharmacodynamique se traduirait, pour les doses actives faibles, par une excitation de la motricité des fibres et, pour les doses actives fortes, par une inhibition des mouvements. Aux doses employées, l'effet toxique est réversible puisqu'un simple lavage détermine la réapparition de la contractilité. L'addition de sulfate d'atropine, au milieu, inhibe les effets du S-gaïazulène mais l'activité de cette substance ne saurait être comparée à celle de l'acétylcholine car elle n'augmente pas sensiblement le tonus intestinal.

L'addition de chlorhydrate de Yohimbine ou de chlorhydrate d'adrénaline, à l'organe stimulé par notre produit, est suivi d'une chute du tonus des fibres et d'une disparition des mouvements péristaltiques.

b) **Sur l'intestin isolé de rat ou de souris.**

Le S-gaïazulène exerce sur ces organes des actions analogues à celles constatées sur l'intestin isolé de cobaye (graphiques n°s 27, 28 et 29). On observe une augmentation de l'amplitude de la fréquence des contractions, sans variation notable du tonus des fibres.

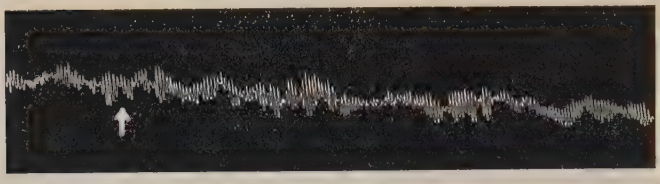
Les effets du sulfate d'atropine (graphique n° 30), du chlo-

rhydrate de Yohimbine et du chlorhydrate d'adrénaline s'exercent normalement, en présence de S-gaïazulène aux doses actives.

CONCLUSIONS

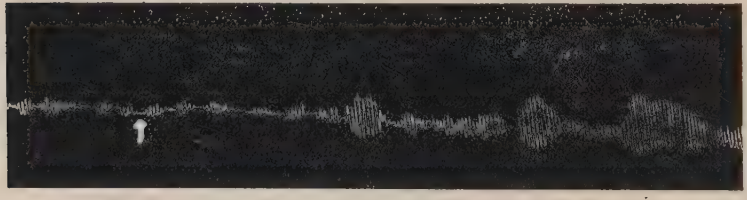
Le S-gaïazulène stimule le péristaltisme de l'intestin isolé de cobaye, de rat et de souris, dès la dose de 10^{-5}. Il n'en modifie pas notablement le tonus. Ses effets sont affaiblis ou supprimés par le sulfate d'atropine, le chlorhydrate de Yohimbine et le chlorhydrate d'adrénaline.

INTESTIN DE RAT



Graphique n° 27

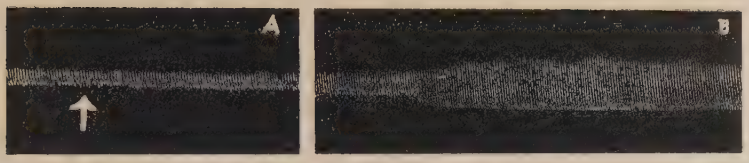
En ↑ : Tween 10^{-4}. Légère chute du tonus. Pas d'accroissement notable des contractions.



Graphique n° 28

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : après 40 secondes, augmentation de l'amplitude des contractions. Légère chute du tonus.

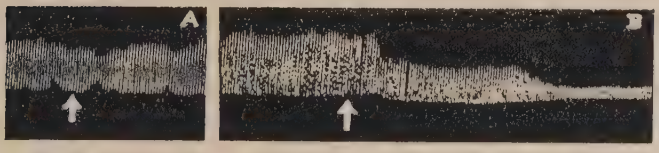
INTESTIN DE SOURIS



Graphique n° 29

En ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : après 2 minutes, augmentation de l'amplitude des contractions.

INTESTIN DE SOURIS



Graphique n° 30

En A ↑ : S-gaïazulène 10^{-5} : contractions plus amples en B.

En B ↑ : SO_4 Atropine : réduction considérable de l'amplitude des contractions.

c) ESSAIS DU S-GAIAZULENE SUR LE POUMON ET LA TRACHEE ISOLES DE COBAYE

Le S-gaïazulène s'étant montré actif sur les fibres lisses utérines et intestinales, nous avons étendu nos recherches à d'autres muscles lisses et, en particulier, au poumon isolé du cobaye, puis à la trachée isolée de cet animal.

ESSAIS SUR LE POUMON

L'animal est sacrifié par section du cou et saigné aussi complètement que possible. Après ouverture du thorax, les poumons et la trachée sont enlevés et introduits dans une solution de Tyrode à 38°. Une canule de verre, en relation, au moyen d'un tube en caoutchouc, avec un flacon de Mariotte contenant de la solution de Tyrode maintenue à la température de 38°, est introduite dans la trachée et maintenue par une ligature. Au moyen d'une aiguille, le parenchyme pulmonaire est perforé en de très nombreux endroits. La canule de verre est ensuite fixée au bouchon d'un flacon contenant une petite quantité de Tyrode destinée à maintenir une atmosphère humide dans le récipient. Le poumon est introduit dans le flacon, le bouchon mis en place et le passage du liquide de perfusion à travers le poumon est réglé de telle sorte qu'il est évacué goutte à goutte à travers les multiples trous dont l'organe est criblé.

La cavité remplie d'air du flacon de Mariotte est mise en relation avec un tambour de Marey, au moyen d'un tube en caoutchouc. Chaque variation de volume d'air, due à l'écoulement des gouttes, entraîne une variation du volume d'air contenu dans le tambour de Marey et il est ainsi possible d'enregistrer la vitesse d'écoulement du liquide, c'est-à-dire les variations du calibre des voies respiratoires.

Le liquide à essayer est injecté par une seringue, à travers le caoutchouc qui conduit le liquide de Ringer au poumon.

Effets du Tween 20 et du Tween 80

Nous avons vérifié que le tween 20 et le tween 80 ne modifient pas le calibre des voies respiratoires aux concentrations inférieures à 10^{-3}.

Effets du S-gaïazulène

Le S-gaïazulène, en émulsion tweenée répondant à la formule :

S-gaïazulène	1 g.
Tween 20 ou 80.....	1 g.
H_2O distillée q. s.....	10.000 cm^3

exerce une action bronchoconstrictrice. L'effet obtenu peut aboutir à l'occlusion totale des bronchioles.

L'action de l'hydrocarbure est réversible, car le tonus des voies respiratoires redevient normal après son élimination par lavages prolongés.

ESSAIS SUR LA TRACHEE ISOLEE

Le S-gaïazulène étant actif sur le poumon isolé, nous avons étendu nos recherches à la trachée seule. La technique de cet essai, mise au point par J.-C. CASTILLO et E.-J. DE BEER (19), permet d'étudier l'action de spasmolytiques et, en particulier, celle de bronchodilatateurs.

L'expérience est préparée comme suit :

La trachée, sitôt découverte, est prélevée et immergée dans une solution de Locke-Ringer aérée et maintenue à la température de 37°5. Sans les sortir du liquide, douze anneaux sont isolés puis réunis en chaîne avec des fils de soie. La chaîne formée est ensuite traitée comme s'il s'agissait d'un utérus ou d'un intestin isolés.

Effets du S-gaïazulène

Nous n'avons pas obtenu de réponse de la trachée, ainsi préparée, mise en présence de S-gaïazulène. Il semble bien que seuls de puissants modificateurs du tonus de ses fibres musculaires soient capables de provoquer des réactions notables dans les conditions de notre expérimentation.

d) MUSCLE DORSAL DE SANGSUE

Le muscle dorsal de sangsue est considéré comme le réactif de choix de l'acétylcholine, nous avons voulu voir si le S-gaïazulène, qui agit souvent comme un parasympathomimétique, provoque la contraction de ce tissu.

L'expérience est préparée comme suit :

L'animal, bien étendu sur une planchette de liège et fixé sur le dos au moyen de deux épingles plantées à ses extrémités, est incisé le long de ses deux sillons pigmentés latéraux. La partie ventrale est détachée et, après lavage à l'eau, les restes de l'appareil digestif, de l'apparil génital et du système nerveux soigneusement enlevés.

Deux fils distants de 1,5 cm. environ sont placés au milieu de la partie antérieure et cette portion est isolée par section de part et d'autre des fils. Transporté dans un récipient contenant du liquide de Ringer convenablement oxygéné, un fil est fixé à l'extrémité coudée du tube d'arrivée d'air et l'autre à un myographe. L'organe est laissé au repos jusqu'à ce qu'il soit détendu. L'attente peut se prolonger pendant deux heures.

Après essai de sa sensibilité par l'acétylcholine, nous avons soumis le muscle à l'action du S-gaïazulène émulsionné grâce au tween 20 (S-gaïazulène et tween 20 à parties égales). Nous n'avons jamais eu de réponse pour des doses comprises entre 10^{-6} et 10^{-3}.

V. — APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES DES PREPARATIONS A BASE D'AZULENE

1) GENERALITES SUR LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES AZULENES

ETAT DES RECHERCHES

Déjà très anciennement connues et utilisées dans le traitement des accidents antiinflammatoires, la Matricaire (**Matricaria chamomilla** (L.) et la Camomille (**Anthemis nobilis** (L.) ont fourni à la médecine populaire la première forme actuellement connue d'un médicament à base d'azulène.

Ce n'est, pourtant, qu'en 1927 que furent entreprises, avec l'Allemand ARNOLD (3), les premières recherches expérimentales, en clinique, relatives à l'activité de ces drogues, recherches qui furent à l'origine de tout une série de travaux auxquels se sont surtout attachés les chercheurs de langue allemande.

En 1933, W. HEUBNER et F. GRABE (42), reprenant les travaux d'ARNOLD, avec d'autres méthodes expérimentales, attribuèrent au chamazulène l'action antiphlogistique des préparations à base de Matricaire.

Ces résultats, confirmés, en 1938, par R. JARETZKI et F. NEUWALD (46), et plus tard par METELMANN (58), furent controversés par HESS, ALTNER et ZEPPMEISEL (40).

Poursuivant ses travaux, en collaboration avec ALBATH, HEUBNER (41) confirma ses premières conclusions.

A partir de 1941, les synthèses se multiplient avec les travaux de RUZICKA et de ses collaborateurs et de PFAU et PLATTNER, et les essais pharmacologiques des azulènes entrent dans une phase nouvelle.

Ch. POMMER (83) retrouve une action antiinflammatoire « inconstante » chez un vétivazulène obtenu synthétiquement mais l'azulène de base est inactif.

En 1946, WILLSTAEDT et ZETTERBERG (111) isolent de *Lactarius deliciosus* L. un corps azulénique, la lactariovioline, active contre le Bacille de Koch.

Enfin, en 1949, H. ARNOLD, F. YUNG et collaborateurs (6 et 48) reconnaissent à plusieurs azulènes synthétiques et trialcoylés, un pouvoir antiphlogistique comparable à celui du chamazulène.

Différents azulènes ont donc la propriété de favoriser les processus de guérison des lésions inflammatoires; mais leur action antiphlogistique n'est pas liée qu'à la molécule du noyau azulénique, qui, d'après Ch. POMMER, s'est révélée inactive. Elle dépend d'autres facteurs dont les connaissances actuelles sont incapables de rendre compte mais que les travaux, en cours, d'ARNOLD et YUNG tendent à préciser.

Il est remarquable que les épreuves pharmacologiques, auxquelles les différents azulènes ont été soumis, ont été extrêmement limitées. En effet, les travaux dont nous avons pu avoir connaissance ne mentionnent que des essais fructueux portant sur leur action antiphlogistique et leur activité antibactérienne, **in vitro**, vis-à-vis du Bacille de Koch et des tentatives, moins heureuses, de traitements de la lèpre du rat et de lésions (xérophtalmie de la souris et colpokératose de la chatte) provoquées expérimentalement par une nourriture carencée en vitamine A (90a).

Ceci peut s'expliquer par le fait que la production des azulènes purs n'a pas dépassé l'échelle du laboratoire de synthèse et que ces substances sont encore souvent considérées comme des « curiosités » chimiques.

ETAT DES RECHERCHES SUR L'ACTION ANTIINFLAMMATOIRE DU S-GAIAZULÈNE

Toutes les recherches faites pour déterminer le pouvoir antiphlogistique du S-gaïazulène semblent avoir été entreprises en marge de travaux relatifs à l'activité du chamazulène et les résultats obtenus n'ont été que mentionnés dans des revues générales (45). Les auteurs signalent, d'une part, que le S-gaïazulène peut être substitué au chamazulène, mais les résultats obtenus sont moins intenses et, d'autre part, que l'évolution de brûlures par rayons X n'est pas améliorée au cours de traitements par des produits à base de S-gaïazulène

2) RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons essayé de préciser l'action du S-gaïazulène sur les érythèmes cutanés provoqués par l'irradiation de la peau au moyen de la lampe à vapeurs de mercure et sur le chémosis provoqué par l'attaque de l'essence de moutarde sur l'œil de Lapin.

1. — ERYTHEMES CUTANES

Nos essais ont été réalisés sur l'homme et sur le rat.

La méthode employée a été proposée par HEUBNER et ALBATH (41), et adoptée avec quelques variations par les différents chercheurs qui se sont intéressés à l'action anti-inflammatoire des azulènes. Elle a pour principe d'irradier des surfaces cutanées par la lampe à vapeur de mercure, à traiter les lésions provoquées par le produit à essayer et à en constater le temps de guérison, par rapport aux témoins.

H.-J. ŒTTEL (84) et différents auteurs suivirent les processus d'inflammation au moyen du photomètre de Pulfrich, mais ce procédé fut critiqué par Ch. POMMER (84), qui conclut, après des essais personnels, que « avec la méthode employée, il n'était pas possible de différencier une diminution de luminosité due à l'inflammation, d'une diminution de luminosité due à la pigmentation ».

1°) Erythème du rat

Technique opératoire

Des rats d'un poids moyen de 200 grammes sont épilés vingt-quatre heures avant l'essai, au moyen d'un épilatoire à base de sulfure de baryum, de manière à découvrir 30 mm. sur 60 mm. de surface cutanée abdominale.

Après vérification de l'absence de lésions ou d'irritation, l'animal est endormi par une petite dose d'éther et l'anesthésie est maintenue pendant tout le temps de l'irradiation.

Un écran en carton, percé de trois trous rectangulaires mesurant 20 mm. de longueur sur 4 mm. de largeur et dis-

tants de 1 cm. les uns des autres, est appliqué sur l'abdomen épilé. Le reste du corps est soigneusement protégé des rayons.

Après différents essais destinés à obtenir des érythèmes, sans nécrose ultérieure, nous avons prolongé la durée d'irradiation à dix minutes et maintenu la lampe à une distance de 20 cm.

Des trois plages irradiées, l'une est enduite de pommade à base d'azulène, la seconde est traitée par l'excipient de la pommade et la troisième ne reçoit rien. Chaque plage traitée est ensuite recouverte de gaze imprégnée de la pommade correspondante La troisième est recouverte de gaze ordinaire. Les pansements sont ensuite fixés avec du sparadrap adhésif perforé et chaque animal est muni d'un tablier métallique destiné à protéger le pansement.

L'état des lésions est constaté chaque jour et les pansements sont renouvelés jusqu'à guérison complète.

Nos expériences ont été réalisées sur trois lots de six animaux. Les animaux d'un même lot étaient traités par les pommades de compositions suivantes :

1er Lot	Vaseline	50	et	Vaseline	50
	Lanoline	50		Lanoline	50
	S-gaïazulène	1			
2e Lot	Vaseline	50	et	Vaseline	50
	Lanoline	50		Lanoline	50
	S-gaïazulène	0,5			
3e Lot	Vaseline	50	et	Vaseline	50
	Lanoline	50		Lanoline	50
	S-gaïazulène	0,2			

Résultats

Les lésions inflammatoires paraissent dans les douze à vingt-quatre heures qui suivent l'irradiation.

L'évolution vers une amélioration est assez rapide, les guérisons les plus tardives sont complètes en cinq jours.

Nous n'avons pas constaté de variations notables dans les temps de guérison entre les différentes plages irradiées et les concentrations employées comme en témoignent les tableaux n° 17, n° 18 et n° 19).

Temps de l'irradiation : dix minutes.

TABLEAU N° 17

Rat n°	Durée de l'irritation en jours		
	Témoins		Excipient + azulène 10^{-2}
	0	Excipient	
1	3	3	3
2	4	4	4
3	4	4	3
4	4	5	4
5	3	5	5
6	4	4	4

TABLEAU N° 18

Rat n°	Durée de l'irritation en jours		
	Témoins		Excipient + azulène 5.10^{-3}
	0	Excipient	
1	4	4	4
2	5	5	4
3	3	4	3
4	3	3	3
5	4	4	3
6	2	4	4

TABLEAU N° 19

Rat n°	Durée de l'irritation en jours		
	Témoins		Excipient + azulène 2.10^{-3}
	0	Excipient	
1	2	3	4
2	5	2	5
3	4	4	4
4	3	4	3
5	5	4	3
6	3	3	3

2°) Erythème de l'homme

Technique opératoire

Nous nous sommes soumis à l'irradiation par la lampe à vapeur de mercure, en exposant simultanément quatre plages de peau d'une superficie de 1 cm. de large sur 3 cm. de long.

La lampe a été placée à 20 cm. de la peau et la durée d'exposition prolongée pendant dix minutes.

Six essais sur le bras ou l'avant-bras ont été ainsi réalisés. Pour chacun, trois des plages irradiées ont été traitées. La quatrième simplement revêtue de gaze.

Les trois plages traitées ont reçu, respectivement, de la pommade au S-gaïazulène au titre de 10^{-2}, de la pommade au S-gaïazulène au titre de 5.10^{-3} et de l'excipient seul. Le tout est protégé par une bande de sparadrap adhésif perforé.

L'état des lésions inflammatoires a été vérifié chaque jour et les pansements renouvelés quotidiennement jusqu'à guérison totale.

Résultats

Dans quatre cas sur six, les zones traitées par le S-gaïazulène ont présenté des inflammations moins intenses, dès leur apparition, et les temps de guérison ont été plus brefs comme l'indique le tableau n° 20. La pommade à 10^{-2} semble un peu plus active que celle à 5.10^{-3}.

TABLEAU N° 20

Essai n°	DUREE DE L'INFLAMMATION EN JOURS			
	0	Pommade sans S-gaïazulène	Pommade + S-gaïazulène à 10^{-2}	Pommade + S-gaïazulène à 5.10^{-3}
1	5	5	4	3
2	4	4	4	5
3	4	4	2	2
4	6	4	2	2
5	3	4	4	5
6	6	5	3	2

2. — CHEMOSIS DE L'ŒIL DE LAPIN

La méthode employée est celle de HEUBNER et GRABE modifiée.

Technique opératoire

1°) Chaque lapin reçoit dans l'œil droit, puis dans l'œil gauche, une goutte de solution d'essence de moutarde à 30 % dans de l'huile d'olive neutralisée.

2°) La même opération est renouvelée, dans le même ordre, cinq minutes plus tard.

3°) De quinze minutes en quinze minutes on instille une goutte de solution de S-gaïazulène dans de l'huile d'olive neutralisée dans l'œil droit; puis une goutte d'huile d'olive neutralisée dans l'œil gauche (témoin). L'opération est répétée dix fois dans le même ordre de succession.

4°) Les traitements sont renouvelés quotidiennement, matin et soir, jusqu'à guérison complète.

Résultats

L'attaque de l'essence de moutarde est immédiate mais l'intensité de ses effets varie avec le sujet considéré.

Les premières réactions des deux yeux sont assez semblables. Dans tous les cas, on observe, dès l'instillation, une conjonctivite intense, parfois accompagnée d'œdème, et une opacification de la cornée plus tardive, mais aussi plus durable.

Nous avons essayé de déterminer l'action du S-gaïazulène en solutions huileuses, aux titres de 1 p. 100, 1 p. 300 et 1 p. 1.000. Pour ces concentrations, nous avons obtenu des guérisons généralement plus rapides que celles observées sur les yeux traités par l'huile d'olive seule. La régression des conjonctivites ne paraît pas très sensiblement activée par le S-gaïazulène, qui, par contre, favorise très nettement l'amélioration des lésions de la cornée.

Les solutions à 1 p. 100 ont été les plus actives, tandis que les solutions à 1 p. 1.000 nous ont donné des résultats douteux (tableau n° 21).

TABLEAU N° 21

ACTION ANTIINFLAMMATOIRE DU S-GAIAZULENE SUR L'ŒIL DE LAPIN SOUMIS A L'ACTION DE L'ESSENCE DE MOUTARDE

SÉRIE 1				SÉRIE 2			
Concentration des solutions huileuses en S-gaïazulène	Animal n°	Œil	Guérison complète après	Concentration des solutions huileuses en S-gaïazulène	Animal n°	Œil	Guérison complète après
1 p. 100	1	témoin traité	(mort dès le début de l'expérience)	1 p 1.000	1	témoin traité	20 jours 9 »
1 p. 100	2	témoin traité	14 jours 10 »	1 p. 100	2	témoin traité	29 » 15 »
1 p. 500	3	témoin traité	20 » 10 »	1 p. 100	3	témoin traité	38 » 16 »
1 p. 500	4	témoin traité	13 » 4 »	1 p. 500	4	témoin traité	28 » 20 »
1 p. 1.000	5	témoin traité	14 » 16 »	1 p. 500	5	témoin traité	13 » 20 »
1 p. 1.000	6	témoin traité	13 » 14 »	1 p. 500	6	témoin traité	29 » 15 »
				1 p. 500	7	témoin traité	13 » 20 »
				1 p. 1.000	8	témoin traité	29 » 15 »
				1 p. 1.000	9	témoin traité	17 » 27 »
				1 p. 1.000	10	témoin traité	13 » 24 »

3) CONCLUSIONS

Erythèmes cutanés

Nos résultats indiquent que le S-gaïazulène, aux concentrations de 10^{-2} et 2.10^{-2}, favorise la guérison des érythèmes cutanés de l'homme. Les effets obtenus sur le rat sont moins nets.

Chémosis de l'œil de lapin

Le S-gaïazulène favorise la guérison du chémosis de l'œil de lapin, provoqué par instillation d'essence de moutarde. Les doses actives sont supérieures à 1 p. 1.000 et les améliorations les plus fréquentes sont obtenues avec les solutions à 1 p. 100, dans les conditions de notre expérimentation.

L'activité du S-gaïazulène sur le chémosis de l'œil serait donc un peu inférieure à celle du chamazulène qui se montre déjà actif à la concentration de 1 p. 1.000 (résultat de Ch. POMMER).

CONCLUSIONS GENERALES

I

Après avoir rappelé les caractéristiques générales des azulènes, nous avons résumé l'essentiel des données acquises sur la structure et les propriétés du S-gaïazulène; ce préambule chimique nous a permis de situer le S-gaïazulène par rapport aux sesquiterpènes, c'est-à-dire par rapport aux processus synthétiques du monde végétal.

II) ACTION SUR LES VEGETAUX

Les effets du S-gaïazulène sur les végétaux ont été suivis, à la fois, sur les Schizophytes et les Angiospermes.

a) Son pouvoir antibactérien est faible vis-à-vis du Staphylocoque doré et du Colibacille.

b) Les effets du S-gaïazulène ont été déterminés sur des Phanérogames Angiospermes. Quatre Monocotylédones et neuf Dicotylédones ont été soumises à son action.

le Poireau, *Allium porrum* (L.)	Liliacées
l'Oignon, *Allium cepa* (L.)	Liliacées
le Ray grass, *Lolium perenne* (L.)	Graminées
la Lentille d'eau, *Lemna minor* (L.)	Lemnacées
le Navet, *Brassica Napus var. esculenta* (D. C.)	Crucifères
le Colza, *Brassica Napus var. oleifera* (D. C.)	Crucifères
la Moutarde blanche, *Sinapis alba* (L.)	Crucifères
le Radis, *Raphanus sativus* (L.)	Crucifères
le Lin, *Linum usitatissimum* (L.)	Linacées
la Luzerne, *Medicago sativa* (L.)	Papilionacées
le Haricot, *Phaseolus vulgaris* (L.)	Papilionacées
le Lupin, *Lupinus albus* (L.)	Papilionacées
la Laitue, *Lactuca sativa* (L.)	Composées

Dans tous les cas, le S-gaïazulène s'est comporté comme un produit hautement actif, dès la concentration de 10^{-4}, même en phase vapeur.

Les effets les plus constants que nous ayons observés portent sur l'inhibition de l'allongement des tigelles et sur la régression des poils absorbants.

Sur la plante entière, la croissance de la radicule est toujours affectée : soit dans le sens d'une inhibition (Monocotylédones), doit dans le sens d'une stimulation (Dicotylédones).

Le S-gaïazulène est absorbé par la radicule, par la tigelle et par les cotylédons. Sa pénétration dans la tigelle se fait par la voie des stomates, même en phase vapeur.

Le S-gaïazulène absorbé par la tigelle se retrouve :

— au niveau de l'épiderme (cellules stomatiques, cellules annexes des stomates, cellules épidermiques sans différenciation apparente).

— au niveau du parenchyme cortical (chambre sous-stomatique, cellules en bordure de la chambre sous-stomatique, cellules apparemment non différenciées).

Il semble que l'hydrocarbure puisse être fixé par les membranes des vaisseaux lignifiés du bois.

Dans la radicule, le S-gaïazulène est fixé par les membranes cellulaires des cellules subérifiées.

L'action du S-gaïazulène sur la Lentille d'eau s'est manifestée par un renforcement de l'action inhibitrice propre au tween 20, dès la concentration de 10^{-4}.

III) ACTION SUR LES ANIMAUX

Le S-gaïazulène s'est révélé toxique sur différentes espèces animales et doué de propriétés pharmacodynamiques intéressantes sur les organes isolés et les processus inflammatoires.

A) EFFETS OBSERVES SUR L'ANIMAL ENTIER

a) La Perche japonaise, *Pomotis gibbosus* L. Centrarchidés succombe pour toute concentration supérieure à 10^{-7} en S-gaïazulène, dans un milieu tweené.

b) La Souris blanche succombe après administration, par voie intrapéritonéale, de doses au moins égales à 1 g. de S-gaïazulène, en solution huileuse, par kilog d'animal.

c) Sur le Chien chloralosé, le S-gaïazulène pur, administré par voie intraveineuse à doses relativement faibles (0,05 g. ou 0,10 g. par kilog d'animal) ou à doses mortelles détermine une hypotension résultant d'une action vagotonique précoce mais brève, d'un effet cardiaque plus durable, d'une chute du

tonus sympathique et probablement d'une atteinte des centres vaso-moteurs.

La respiration est longuement stimulée par les doses administrées sur un rythme lent et bloquée, passagèrement, par les doses injectées brutalement. Cette action semble, en grande partie, relever d'une excitation du pneumogastrique.

La rate est paralysée pour toutes les doses injectées.

Le péristaltisme intestinal est stimulé par des doses faibles administrées, **per os**, en émulsions tweenées à 1 p. 1.000 et par voie intraveineuse, à l'état pur.

La dose mortelle en ± soixante minutes, déterminée selon la méthode de TIFFENEAU, se situe aux environs de 0,70 g. par kilog d'animal (moyenne de cinq animaux).

Le S-gaïazulène ne se retrouve qu'à l'état de traces dans le cœur, le foie, la rate et les reins. Dès l'injection, il s'accumule dans le poumon qui est son principal émonctoire. Son affinité pour les lipides le fait retrouver dans le tissu adipeux, mais nous n'avons pas constaté de localisation cérébrale notable.

Le S-gaïazulène, administré à doses toxiques, provoque des lésions du poumon et des reins. Il ne modifie pas sensiblement l'urémie, la glycémie et la cholestérolémie.

B) EFFETS PHARMACODYNAMIQUES OBSERVES SUR LES ORGANES ISOLES

a) Le S-gaïazulène retarde l'apparition des effets toxiques des tweens 20 et 80 sur le cœur isolé de grenouille.

b) En émulsion tweenée, il s'est révélé très actif sur la motricité des fibres utérines et intestinales de cobaye, de rat et de souris, dont il stimule les mouvements dès la concentration de 10^{-5} dans le milieu de survie. Il ne modifie pas les effets normaux du sulfate d'atropine, de l'adrénaline et du chlorhydrate de Yohimbine.

(Son action sur l'utérus, « **in vivo** », conduit à l'avortement de la souris gestante).

c) A la concentration de 10^{-4}, le S-gaïazulène provoque la contraction des bronches mais il n'agit pas notablement sur la trachée.

d) Il est inactif sur la motricité du muscle dorsal de sangsue.

C) APPLICATIONS PHARMACOLOGIQUES

Enfin, le S-gaïazulène, en pommade titrée à 1.10^{-2} et 5.10^{-3}, accélère la guérison de l'érythème cutané de lumière ultra-violette chez l'homme. En solution huileuse à 2.10^{-3} ou 1.10^{-2}, chez le lapin, il abrège la durée des lésions provoquées par l'essence de moutarde sur l'œil et ses annexes. Ainsi l'action du S-gaïazulène s'apparente aux effets anti-inflammatoires reconnus au chamazulène et au vétivazulène.

Le Président de thèse,
CAUJOLLE.

VU : le Doyen,
CH. LEFEBVRE.

Vu et permis d'imprimer

Toulouse, le 12 novembre 1951.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

(1) ALBATH (W.). — Entzündungswidrige Stoffe im Kamillenöl. *(Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1939, *193*, 619.)

(2) ANDERSON (A.), NELSON (J.). — Electrophilic substitution of azulene. *(J. amer. Chem. Soc.*, 1950, *72*, 3824.)

(3) ARNOLD (W.). — Über Kamille, Pfefferminze und Fenchel. *(Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1927, *123*, 128.)

(4) ARNOLD (H.). — Über die Ringerweiterung bei der Umsetzung von Amino-methyl-hexahydroindanen mit salpetriger Säure und ihre Bedeutung für die Azulen-Synthese. *(Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.*, 1943, *76*, 777.)

(5) ARNOLD (H.), HÜTER (F.), SCHMIDT (J.), WAGNER-JAUREGG (Th). — Über synthetische Azulene. *(Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.*, 1941, *9*, 1522).

(6) ARNOLD (H.), JUNG (F.), REUBERG (R.) et SPIELMANN (W.). — Synthetische Azulene mit entzündungswidriger Wirkung. *(Die Pharmazie*, 1949, *5*, 219.)

(7) ARNOLD (H.), SPIELMANN (W.). — Darstellung des 5-méthyl-2-isopropyl und des 5-7-dimethyl-2-isopropylazulens. Weitere Untersuchungen der Beziehungen zwischen Farbe und Konstitution bei Azulenen. *(Ber. d. Dtsch. chem. Ges.*, 1950, *83*, n° 1, 28.)

(8) ASCHAN. — Ds. Polonovski et Lespagnol. *(Chimie organique biologique*, 1941, 235.)

(9) AUGSPURGER (L.). — The isolation of a blue hydrocarbon from Milfoil oil; [*Science (N.S.)*, 1945, *42*, 100].

(10) BARBIER (Ph.), BOUVEAULT (L.). — Sur l'essence de Pelargonium de la Réunion. *(C. R. A. S.*, 1894, *119*, 281.)

(11) BAKER et SMITH. — Research on the Eucalyptus, 1920, 417, Sydney.

(12) BARRET (J. W.) et LINSTEAD (R. P.). — Fusel carbon rings. Some fundamental properties of the 0-3-5 bicyclo-octane ring. *(J. Chem. Soc. London*, 1936, *611.)*

(13) BERTHIER (G.), PULLMAN (A.). — Structure électronique, moment dipolaire et énergie de résonance de l'azulène *(C. R. A. S.*, 1949, *229*, 761, n° 16.)

(14) BIRRELL (K. S.). — Studies on the chemistry of azulenes. *(J. Amer. Chem. Soc.*, 1935, *57*, 893.)

(15) BRIGGS (L.), SHORT (W.). — Aromadendrene. *(J. chem. Soc. London,* 1928, *1,* 2524.)

(16) BUCHNER (E.). — Über Pseudophenylessigsäure. *(Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.,* 1898, *31,* 2241.)

(17) CAHN (R.), GIBSON (Ch.), PENFOLD (A.) et SIMONSEN (J.) — The essential Oil of *Backhousia angustifolia.* The Constitutions of Angustione and Dehydroangustione. *(J. Chem. Soc. Trans.,* 1931, *1,* 286.)

(18) CALIEZI (A.), SCHINZ (H.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1950, *33,* 1129.)

(19) CASTILLO (J.-C.), DE BEER (E.-J.). — A preparation for the study of antispasmodics with particular reference to bronchodilator drugs. *(Journ. of Pharmacol. and exper. Therapeutics,* 1947, *90,* pp. 104-109.)

(20) CAUJOLLE (F.), BERGAL (G.). — Influence de l'acide phénylborique sur la germination de quelques apétales. *(C. R. A. S.,* 1949, *228,* 1249.)

(21) CAUJOLLE (F.), BERGAL (G.). — Influence comparée des acides borique et phénylborique sur le développement des plantules de quelques apétales. *(C. R. A. S.,* 1949, *228,* 1516.)

(22) CAUJOLLE (G.), DELAS (R.), STANISLAS (E.). — Action antiseptique de l'orthothymotate de sodium. *(Toulouse Méd.,* 1948, *1,* 41.)

(23) CAUJOLLE (F.), LEPAULT (R.), MOSCARELLA (C.). — Toxicité des tweens 20 et 80 vis-à-vis des végétaux supérieurs. *(69e Congrès Assoc. fr. Avanc. Sci.,* Toulouse, sept. 1950.)

(24) CAUJOLLE (F.), COUTURIER (P.), DELAS (R.), et STANISLAS (E.). — Contribution à l'étude des propriétés pharmacodynamiques du thymoxyacétate de sodium. *(Toulouse Méd.,* 1948, n° 1, 45.)

(25) CAUJOLLE (F.), STANISLAS (E.). — Action du S-gaïazulène sur la fibre utérine. *(C. R. A. S.,* 1951, *232,* 766.)

(26) CAUJOLLE (F.), STANISLAS (E.), BERGAL (G.). — Sur l'absorption du S-gaïazulène par *Lupinus albus* (L.). *(C. R. A. S.,* t. 233, pp. 1134-1136, séance du 5 novembre 1951.)

(27) CLAR (E.). — Aromatic hydrocarbons. *(J. Chem. Soc. G. B.,* 1950, 1823.)

(28) DUHAMET (L.). — Recherches sur l'action de l'hétéro-auxine et de la colchicine sur la croissance des racines isolées de *Lupinus albus. (Rev. Cytol. et Cytophysiol. végét.,* 1945, *8,* 35.)

(29) DUTT (K. B.), DEV (Sukh) et GUHA (P. C.). — New reagents for the characterization and purification of S-gaïazulene. *(Sciences and Culture,* 1950, *15,* 488.)

(30) FROMM (F.). — L'emploi de *Lemna minor* (L.) dans des essais rapides de toxicité. *(Cienca Mex.*, 1946, *7*, 214.)

(31) GAUTHERET (R.). — *Manuel technique de culture de tissus végétaux.* (Masson et Cie, édit. Paris, 1942.)

(32) GAUTRELET (J.). — *Eléments de technique physiologique.* (Masson et Cie, édit., Paris, 1932.)

(33) GLADSTONE. — [Cf. (64)].

(34) GAZET du CHATELIER (G.), et ASSENMACHER (C.). — Rapports entre l'influence de l'oxygénation et l'action de l'acétylcholine sur l'utérus de cobaye vierge. *(Ann. Pharm. franç.*, 1950, n° 6, 490.)

(35) GÜNTHARD (H. H.). — Über röntgengraphische und spektroskopische Untersuchungen an Azulenen. *(Thèse Doct., Sci. tech.*, Zurich, 1949.)

(36) GÜNTHARD (H. H.), et PLATTNER (P. A.). — Über die Kristallstruktur des Azulens. *(Experientia*, Suisse, 1948, *4*, n° 11, 425.)

(37) GUNTHARD (H. H.) et PLATTNER (P. A.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta*, 1949, *32*, 284.)

(37a) HAAGEN (A. J.). — Azulene. *(Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, 1948, *5*, 40-71.)

(38) HEILBRONNER (E.). — Spectroscopische Untersuchungen an Azulenen. *(Thèse Doct. Sci. tech.*, Zurich, 1949.)

(39) HERZENBERG (J.) et RUHEMANN (S.). — Über das blaue Öl des Braunkohlenteers. *(Ber., Dtsch. Chem. Ges.*, 1925, *58*, 2249.)

(40) HESSE (E.), ALTNER (W.), et ZEPPMEISEL (L.). — Pharmakologische Untersuchungen über das Calciumglucoheptonat. *(Klinische Wochenschrift*, 1936, *15*, 1485.)

(41) HEUBNER (W.) et ALBATH (W.). — Über die entzündungswidrige Wirkung des Rein-Azulens aus *Matricaria Chamomilla* (L.). *(Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1939, *192*, 26 et 383.)

(42) HEUBNER (W.) et GRABE (F.). — Über die entzündungswidrige Wirkung des Kamillenöls. *(Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1933, *171*, 329.)

(43) HÜCKEL (W.) et SCHMITZPAHN (L.). — Zur stereochemie bicyclischer Ringsysteme, derivate des Cyclopentano-Cycloheptans. — *(Liebigs Ann. Chem.*, 1933, *505*, 270.)

(44) HÜTER (F.). — Les azulènes naturels et les azulènes synthétiques. *(Dtsch. Parfümerie Ztg.*, 1942, *28*, 153.)

(45) JANISTYN (H.). — Das Azulen und seine Verwendung. *(Parfümerie und Kosmetik*, 1951, 32, n° 3, 72, et 1951, 33, n° 4, 110.)

(46) JARETZKY (R.) et NEUWALD (F.). — Pharmakologische Vergleichsprüfungen der Öle von *Matricaria Chamomilla* (L.) und

Matricaria discoïdea (L.) *(Arch. d. Pharm. u. Ber. d. Dtsch. pharmazeut. Ges.*, 1939, *277*, 50.)

(47) JULLIEN (A.). — *Travaux pratiques de Physiologie et principes d'expérimentation.* (Baillère et fils, Paris, 1935.)

(48) JUNG (F.), ARNOLD (H.), SCHOETENSACK (W.), BRUNO (G.). — Zur pharmakologischen Prüfung entzündungswidriger Azulene. *(Klin. Wschr. Dtsch.*, 1949, *27*, 511.)

(49) KACHLER (J.). — Über das blaue Kamillenöl. *(Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1871, *4*, 36.)

(50) KAISER (H.) et FREY (H.). — Absolutkolorimetrische Beurteilung von Kamillendrogen und zusammenfassende Schlussbetrachtungen über die Azulenbestimmungsmethode und deren Auswertungsmöglichkeiten. *(Dtsch. Apoth. Ztg.*, 1942, *155*, 33/34 et 1942, *163*, 35/36.)

(51) KAISER (H.) et FREY (H.). — Beurteilung von Kamillen Fluideetrakten oder ähnlichen Handelspräparaten auf Grund unserer absolutkolorimetrischen Azulenbestimmungsmethode. *(Dtsch. Apoth., Ztg.*, 1939, n° 54, 882.)

(52) KAISER (H.) et FREY (H.). — Neue Ergebnisse für die Beurteilung des Rein-Azulengehaltes von *Matricaria Chamomilla* und deren Zubereitungen. *(Dtsch. Apoth. Ztg.*, 1938, *53*, 1385.)

(53) KARRER (P.), RUCKSTUHL (H.) et ZBINDEN (E.). — Über Lactarioviolin, einen Farbstoff aus *Lactarius deliciosus. (Helv. Chim. Acta.*, 1945, *28*, 1176.)

(54) KERSCHBAUM. — Über den aliphatischen Sesquiterpen-Alkohol Farnesol. *(Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1913, *46*, 1732.)

(55) KOCH (K.). — Untersuchungen über den Azulengehalt der *Flores Chamomillae* und der daraus hergestellten pharmazeutischen Zubereitungen. (*Arch. der. Pharmaz.*, 1942, *280*, 424.)

(56) KOHLSTAEDT (E.), STAAB (E.) et KESPER (W.). — Über das ätherische Öl der Kamille. *(Die Pharmazie*, 1946, *1*, 218.)

(57) LAMBIN (S.) et ROBERT (M.). — Influence de la concentration en bactéries sur les résultats de l'essai *in vitro* des substances antimicrobiennes. *(Ann. pharm. fr.*, 1951, *9*, n° 2, 103.)

(58) METELMANN. — *Arch. f. Exper. Path. u. Pharmakol.*, 1938, *263*, 191.

(59) MILTON (S.), SCHECHTER et HALLER (H. L.). — The formation of an Azulene on Zinc-Dust Distillation of Pyrethrosin. *(J. amer. Chem. Soc.*, 1941, *63*, 3507.)

(60) MÜLLER (A.). — Sur les composés terpénochromogènes et terpénochromes. *(J. prakt. Chem.*, 1940, *156*, 179.)

(61) NAVES (Y. R.). — Développement récent de la chimie des substances odorantes dérivées d'hydroazulènes. *(Parfumerie*, 1943, *1*, n° 3, 70.)

(62) NAVES (Y. R.) et PERROTTET (E.). — Etudes sur les matières végétales volatiles. *(Helv. Chim. Acta.,* 1941, *24,* 3.)

(63) NOLF. — Procédé nouveau applicable à l'étude des substances à action vasomotrice directe et à la détermination de la durée totale de la circulation. *(Bull. Acad. Royale Belgique,* Classe des Sciences, 1902, 895.)

(64) PFAU (A. St.) et PLATTNER (Pl.). — Zur Kenntnis der flüchtigen Pflanzenstoffe. *(Helv. Chim. Acta.,* 1936, *19,* 858.)

(65) PFAU (A.), PLATTNER (P. A.), SUSZ (B.). — Etudes sur les matières végétales volatiles. *(Helv. Chim. Acta.,* 1937, *20,* 469.)

(66) PLATTNER (P. A.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta., 24,* 283.)

(67) PLATTNER (P. A.) et BÜCHI (G.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1946, *29,* 1608.)

(68) PLATTNER (P. A.), FÜRST (A.), CHOPIN (J.), WINTELER (C.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Hel. Chim. Acta.,* 1948, *31,* 501.)

(69) PLATTNER (P. A.), FÜRST (A.) et KELLER (W.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1949, *32,* 2464.)

(70) PLATTNER (P. A.), FÜRST (A.), MARTI (L.) et SCHMID (H.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1949, *32,* 2137.)

(71) PLATTNER (P. A.), FÜRST (A.) et MARTI (L.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1949, *32,* 2452.)

(72) PLATTNER (P. A.), HEILBRONNER (E.). — Über die Konstitution des Lactarioviolins. *(Experientia,* 1945, *1,* 233.)

(73) PLATTNER (P. A.), HEILBRONNER (E.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1947, *30,* 910.)

(74) PLATTNER (P. A.), HEILBRONNER (E.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1948, n° 3, 804.)

(75) PLATTNER (A.), HEILBRONNER (E.) et WEBER (S.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene und Azulene *(Helv. Chim. Acta.,* 1949, *32,* 574.)

(76) PLATTNER (A.) et LEMAY (L.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. Über das Kohlenstoff-Gerüst des Guajols und des Guajazulens. *(Helv. Chim. Acta.,* 1940, *23,* 897.)

(77) PLATTNER (P.) et MAGYAR (G.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.,* 1942, *25,* 581.)

(78) PLATTNER (Pl. A.) et PFAU (A. St.). — Zur Kenntnis der flüchtigen Pflanzenstoffe. *(Helv. Chim. Acta.,* 1936, *19,* 858; 1937, *20,* 224.)

(79) PLATTNER (A.), SANDRIN (R.) et WYSS (J.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.*, 1946, *29*, 1604.)

(80) PLATTNER (A.) et STUDER (A.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.*, 1946, *29*, 1432.)

(81) PLATTNER (A.) et WYSS (J.). — Zur Kenntnis der Sesquiterpene. *(Helv. Chim. Acta.*, 1940, *23*, 907.)

(82) PLATTNER (Pl. A.) et WYSS (J.). — Sur les sesquiterpènes. *(Helv. Chim. Acta.*, 1941, *24*, 483.)

(83) POMMER (Ch.). — Über die Wirkung einiger Azulene bei Entzündungen. *(Arch. f. exp Pathol. und Pharmakol.*, 1942, *199*, 74.)

(84) POMMER (H.). — Über den Stand der Forschung auf dem Gebiet des Azulene. *(Angew. Chem.*, 1950, *62*, 281.)

(85) PIESSE (S.). — *C. R. A. S.*, 1863, *57*, 1016.

(86) PULLMAN (B.), MAYOT (M.), BERTHIER (G.). — The occurrence of hypochromic schifts on alkyl substitution : structure and color of methylsted derivative of azulene. *(J. Chem. Phys. U. S. A.*, 1950, *18*, n° 3, 257).

(87) RADCLIFFE (C.) et SHORT (W.). — Aromadendrene. *(J. Chem. Soc. London*, 1938, *2*, 1201.)

(88) RUHEMANN (S.) et LEWY (K.). — Über das blaue Öl des Braunkohlen generatorteeres und seine Beziehung zu dem Azulen und den Sesquiterpenen des Kamillenöles. *(Ber. der Dtsch. Chem. Ges.*, 1927, *60*, 2459.)

(89) RUZICKA (L.). — L'architecture des sesqui et polyterpènes. *(Bull. Soc. Chim. France*, 1937, *4*, 1302.)

(90) RUZICKA (L.). — La constitution des polyterpènes. *(Angew. Chem.*, 1938, *51*, 5.)

(90a) RUZICKA (L.) et HAAGEN-SMIT (A. J.). — Polyterpene und polyterpenoide. *(Helv. chim. Acta.* Zur Kenntis der Azulene, 1931, *14*, 1104; zur Kenntis des Guajols, 1931, *14*, 1122.)

(91) RUZICKA (L.) et RUDOLPH (E. A.). — Höhere Terpenverbingungen. Zur Kenntis der Azulene. *(Helv. Chim. Acta.*, 1926, *9*, 118-140.)

(92) RUZICKA (L.) et RUDOLPH (E. A.). — *Helv. Chim. Acta.* (1927, *10*, 916; 1928, *11*, 253.)

(93) SABETAY (S.) et SABETAY (H.). — Sur une réaction colorée des sesquiterpènes azulénogènes. *(C. R. A. S.*, 1934, *199*, 313.)

(94) SEMMLER (F. W). — Die ätherischen Öle, 1906, *3*, 260, *Leipzig.*

(95) SHERNDAL (A. E.). — On the blue hydrocarbon occuring in some essential oils. *(J. Amer. Chem. Soc.*, 1915, *37*, 167); Azulene a blue hydrocarbon *(id.* 1915, *37*, 717.)

(96) SORM (F.), KNESSL (O.). — On terpenes. *(Collect. Trav. Chim. Tchécoslov.*, 1949, *14*, n° 201.)

(97) SORM (F.), TORNASEK (V.), VRBA (R.). — On terpenes. *(Collect. Trav. Chim. Tchécoslov.,* 1949, *14,* 345.)

(98) STANISLAS (E.). — Action du S-gaïazulène sur la motricité de la fibre lisse intestinale de cobaye. *(69e Congrès Assoc. Fr. Avanc. Sci.,* Toulouse, sept. 1950.)

(99) STANISLAS (E.), BERGAL (G.), MOSCARELLA (C.). — Action du S-gaïazulène sur la germination et le développement des plantules de quelques dicotylédones. *(Ann. pharm. fr.,* 1951, *9* et *10,* 608-611.)

(100) SUKHDEV, GUHA (P. C.). — Studies in sesquiterpenes. *(J. Indian Chem. Soc.,* 1949, *26,* 263.)

(101) TIFFENEAU, PICHOT, LEVY. — *Essai dosage biol. méd.* (Masson et Cie., édit., Paris, 1930.)

(102) TREIBS (W.). — Über polycyclische Azulene und Verdazulene. *(Dtsch. Naturwissenschaften.,* 1946, *33,* 371.)

(103) TREIBS (W). — Über tricyclische Azulene und Azulen-Bildner. *(Angew. Chem. Dtsch.,* 1949, *61,* n° 11, 441.)

(104) TREIBS (W). — Das Patchoulöl, ein Tricyclischer Azulenbildner. *(Angew. Chem.,* 1950, *62,* 87.)

(105) TREIBS (W.), BARCHET (H. M.). — Über bi und polycyclische Azulene. *(Ann. Chem.,* 1950, *566,* n° 1, 89.)

(106) TREIBS (W.), FROITZHEIM (H.). — Über bi und polycyclische Azulene. *(Ann. Chem.,* 1949, 564, n° 1, 43.)

(107) WALLACH (A.). — *Liebigs Ann.,* 1887, *239,* 49.

(108) VONDERBANK (H.). — Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberkulose. *(Die Pharmazie,* 1949, *4,* 198.)

(109) WAGNER (Th.), JAUREGG ( ), ARNOLD (H.), HÜTER (F.) et SCHMIDT (J.). — Über synthetische Azulene. *(Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.,* 1941, *74,* 1522.)

(110) WEGNER (E.). — Über den Azulengehalt wässriger Kamillenauszüge. *(Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges.,* 1950, *283,* 127.)

(111) WILLSTAEDT (H.) et ZETTERBERG (Bo.). — *Svensk farm. tjidskr.,* 1946, *58,* 306.

Question posée par la Faculté

LE FRAGON EPINEUX

RUSCUS ACULEATUS (L.) Liliacées